

THESE

présentée

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

«Mention PHARMACIE»

par

Ramazan PAYENDAH

Pharmacien

Diplôme du Certificat d'Etudes Supérieures de Pharmacodynamie de Nancy

né le 5 Juillet 1940, à KABOUL (Afghanistan)

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'INCIDENCE BIOCHIMIQUE DES MEDICAMENTS ANTIDEPRESSIFS CENTRAUX DE LA CLASSE DES INHIBITEURS DE LA MONOAMINE-OXYDASE

Soutenue le 14 Juin 1969 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury

Président

M^{lle} BESSON, Professeur

Juges

M. PIERFETTE, Professeur

M. JOUANY, Maître de Conf.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551914_0012

LOUDART & CLÉMENT

RELIEURS

11, Rue Saint-Arne, 11

Tél. 52.80.09 - NANCY

présentée

pour obtenir le titre de

«Mention PHARMACIE»

par

Ramazan PAYENDAH

Pharmacies

Diplômé du Certificat d'Etudes Supérieures de Pharmacodynamie de Nancy

né le 5 Juillet 1940, à KABOUL (Afghanistan)

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'INCIDENCE BIOCHIMIQUE DES MEDICAMENTS ANTIDEPRESSIFS CENTRAUX DE LA CLASSE DES INHIBITEURS DE LA MONOAMINE-OXYDASE

Soutenue le 14 Juin 1969 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury :

Président : . . . M^{lle} BESSON, Professeur

Juges : } **M. PIERFITTE** *Professeur*
 } **M. JOUANY**, *Maître de Cont.*

THÈSE

présentée

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

«Mention PHARMACIE»

par

RAMEZAN PAYENDAH

Pharmacien

Diplômé du Certificat d'Études Supérieures de Pharmacodynamie de Nancy

né le 5 juillet 1940, à KABOUL (Afghanistan)



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'INCIDENCE BIOCHIMIQUE
DES MÉDICAMENTS ANTIDRESSIFS CENTRAUX DE LA
CLASSE DES INHIBITEURS DE LA MONOAMINE-OXYDASE

Soutenue le 14 juin 1969 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury :

M^{me} BESSON, Professeur

Président :

M. PIERRE, Professeur

Juges :

M. JOUANY, Maître de Conférences

UNIVERSITE DE NANCY
FACULTE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

Doyen

Professeur A. BERNANOSE

Assesseur

Professeur R. BENE

Secrétaire principal

B. SEUROT

PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs

M.	MEUNIER A.	Pharmacie galénique
Melle	FRANÇOIS M. Th.	Matière médicale
MM.	MARCHAL J.G.	Microbiologie
	STEIMETZ E.	Sciences naturelles
	SOLEIL J.	Pharmacie chimique
	BERNANOSE A.	Physique
Melle	BESSON S.	Pharmacodynamie
MM.	BENE R.	Sciences biologiques (Zoologie, Biologie, Parasitologie, Hématologie)
	MIRJOLET M.	Chimie analytique et toxicologique
	PIERFITTE M.	Chimie biologique
	PELT J.M.	Biologie végétale et cryptogamie

MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

M.	MARTIN J.A.	Chimie minérale et minéralogie
----	-------------	--------------------------------

MAITRES DE CONFERENCES DELEGUES

Melle	GIRARD Th.	Hygiène
MM.	HAYON J.C.	Matière médicale et botanique.
	JOUANY J.M.	Toxicologie
	SCHWARZBROD L.	Microbiologie
	SIEST G.	Chimie biologique

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

MM.	BERNANOSE A.	Diplôme d'Etat d'Audioprothésiste
	MEUNIER A.	Hydrologie, Hydrologie thermique
	MARCHAL J.G.	C.E.S. Immunologie
	STEIMETZ E."	Mycologie, Microchimie
	SOLEIL J.	C.E.S. Pharmacotechnie chimique
	MIRJOLET M.	C.E.S. Chimie biologique, Méthodes physiques et chimiques d'analyse.

MM.	PIERFITTE M.	C.E.S. Chimie biologique
	PELT J.M.	C.E.S. Mycologie
	MARTIN J.A.	Travaux dirigés de Chimie générale et minérale
Melle	GIRARD Th.	C.E.S. Mycologie
MM.	HAYON J.C.	C.E.S. Mycologie
	SCHWARTZBROD L.	C.E.S. Immunologie
Mme	LASSEUR A.	C.E.S. Immunologie
MM.	AIMOND P.	Diplôme d'Etat d'Audioprothésiste
	LOPPINET V.	Chimie organique
Mme	BALDO S.	C.E.S. Immunologie
MM.	HOFFMAN M.	Pharmacie galénique industrielle
	LECTARD P.	C.E.S. Mycologie
	ANZIANI P.	Synthèse organique
	BOYER P.	Notions de mathématiques appliquées aux sciences expérimentales - Physique
	CALAMAI	Diplôme d'Etat d'Audioprothésiste
	COINUS	Eléments de séméiologie et de pathologie générale
	DIVOUX	Gestion et comptabilité
	GAUDRON	Reconnaisances de pharmacie chimique et galénique
	GREGOIRE	Pharmacie galénique (conférences)
	GRIMAUD	Législation - Législation pharmaceutique et sociale
	HACHET	Diplôme d'Etat d'Audioprothésiste
	HOUPLON	Diplôme d'Etat d'Audioprothésiste
	KREEL	Génie pharmaceutique
	LAGARDE	Eléments de séméiologie et de pathologie générale
	LARCAN	Génie pharmaceutique
	MEYER	Législation pharmaceutique et sociale
		Eléments de séméiologie et de pathologie générale
		Gestion et comptabilité

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

Mme	LASSEUR A.	Titulaire	Microbiologie
MM.	AIMOND P.	"	Chimie analytique quantitative
	LOPPINET V.	"	Pharmacotechnie chimique
	BAUDOT Ph.	Stagiaire	Chimie minérale et organique
	DIXNEUF P.	"	Physique
	HOFFMAN M.	"	Pharmacie galénique
Mme	BALDO S.	Déléguee	Microbiologie
Mlle	BARRET F.	"	Zoologie
Mme	BROCHET Ch.	"	Sciences pharmaceutiques
MM.	JACQUE M.	"	Pharmacodynamie
	LECTARD P.	"	Micrographie
Melle	PANEK E.	"	Chimie biologique
Melle	ROOS F.	"	Biochimie
Melle	GIRARD Th.	Chargée	Secourisme

DOYEN HONORAIRE M. RICHARD, Recteur de l'Académie de TOULOUSE
PROFESSEURS HONORAIRES M. CORDEBARD H. - M. FRANQUET R.
MAITRE DE CONFERENCES HONORAIRE M. ANZIANI P.

A MON PERE

en témoignage de mon respectueux attachement
et de ma reconnaissance

A LA MEMOIRE DE MA MERE

A MES FRERES ET A MA SOEUR

A MA FEMME

grâce à sa compréhension j'ai pu m'engager dans ce Travail.
En témoignage de ma profonde affection.

A LA MEMOIRE DU DOYEN SAID ABDULLAH SAID

Notre premier Maître

A TOUS MES PROFESSEURS DE LA FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE KABOUL

en particulier MONSIEUR LE PROFESSEUR SAID MOHAMED ISHACK,
le DOCTEUR HABIB DIL et le DOCTEUR SALAMUDIN WEISE du département
de Pharmacologie

A MES AMIS ET COLLEGUES DE LA FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE KABOUL

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY DE THESE

MADemoiselle LE PROFESSEUR BESSON

Professeur de Pharmacodynamie,

que j'ai connue en 1964 lors de sa mission d'enseignement dans notre Faculté et qui accepta avec la plus grande cordialité ma venue dans son Laboratoire.

Pour ses conseils, ses encouragements, son aide permanente et son total dévouement qui m'ont été chaque jour un inoubliable modèle de vie, et m'ont permis de mener à bien mon Travail,

Je tiens à lui témoigner mes sentiments de très profonde reconnaissance et de grande affection.

MONSIEUR LE PROFESSEUR PIERFITTE

Professeur de Chimie Biologique,

qui a non seulement accepté de participer à ce jury mais m'a consacré, malgré ses charges, un temps précieux et m'a donné des conseils et des avis judicieux. Je lui exprime toute ma reconnaissance.

MONSIEUR LE PROFESSEUR JOUANY

Professeur de Toxicologie,

qui a bien voulu s'intéresser à nos recherches, m'a prodigué des conseils qui m'ont été fort utiles, et m'a fait l'honneur de me juger. Je lui exprime toute ma reconnaissance.

A MESSIEURS LES PROFESSEURS NETIEN, PELT, TRAISNEL et HAYON

Je n'oublie pas l'enseignement qu'ils ont dispensé à la Faculté de Kaboul et dont j'ai largement profité.

A TOUS LES MEMBRES DU LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE

Monsieur et Madame JACQUE, Chefs de Travaux Pratiques, dont j'ai apprécié l'enseignement qui m'a permis d'acquérir le C.E.S. de Pharmacodynamie. J'adresse mes sincères remerciements pour leur aide amicale.

Madame VILLEMIN, Biologiste du C.N.R.S., son aide m'a été très précieuse et je lui en suis très reconnaissant.

Monsieur PLOUSSARD que j'assure de mes remerciements bien amicaux pour l'aide qu'il m'a apportée.

Mademoiselle BARRET, Chef de Travaux d'Histologie dont j'ai apprécié la sollicitude bienveillante.

Madame FRENOT pour les longues heures qu'elle a passées sur mon travail et le soin minutieux qu'elle a apporté à sa présentation, je lui exprime mes remerciements très cordiaux.

Aux Etudiants dont l'aide a rendu plus rapide l'élaboration de mon Travail, Messieurs CATAU, MANGEAT, RICHER, Mesdemoiselles BATT, BEN SIMON, HOSOTTE, JANOT, MOREL , SIMONIN, je garde un souvenir d'amicale gratitude.

Monsieur MONTEMONT et Monsieur CLAUDEL qui ont grandement facilité mon Travail; je leur adresse mes plus vifs remerciements.

A TOUS CEUX QUI M'ONT ACCUEILLI EN AMI

en particulier Monsieur et Madame NOTTER qui, pendant mon séjour à Nancy, m'ont souvent reçu dans leur foyer, ainsi qu'à Dominique NOTTER dont l'amitié et l'aide permanente m'ont été précieuses.

P L A N

Introduction

1ère PARTIE

MONOAMINE-OXYDASE ET INHIBITION DE SON ACTIVITE

M O N O A M I N E - O X Y D A S E

REPARTITION TISSULAIRE

LOCALISATION CELLULAIRE

CONSTITUTION

PLURALITE

ROLE PHYSIOLOGIQUE

- MAO et catécholamines
- MAO et sérotonine

I N H I B I T I O N D E L A M O N O A M I N E - O X Y D A S E

SUBSTANCES ANTIDEPRESSIVES, DITES IMAO

Conséquences de l'inhibition de MAO

- 1) IMAO et catécholamines
- 2) IMAO et sérotonine
- 3) IMAO et tryptamine
- 4) IMAO et autres amines.

Inhibition de MAO et effet anti-dépressif

TEST d'ACTIVITE IMAO

METHODES CHIMIQUES DE MESURE D'ACTIVITE DE MAO

- 1) Choix de la préparation tissulaire
- 2) Choix du substrat d'activité MAO
- 3) Choix des techniques.

2ème PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'INHIBITION DE LA MONOAMINE-OXYDASE PAR DES

ANTIDEPRESSIFS

D O S A G E D E L ' A C T I V I T E D E L A M O N O A M I N E - O X Y D A S E P A R L A M E T H O D E A L A C Y N U R A M I N E

PRINCIPE

LECTURES SPECTRALES U.V.

SPECTRE DE FLUORESCENCE DE LA 4 HOQ

APPLICATION A L'ANALYSE DES TISSUS

Amélioration des conditions expérimentales

Expression des résultats

TECHNIQUE PROPOSEE

Préparation des homogénats tissulaires

Protocole expérimental

Expression des résultats

EXPERIMENTATION

CHOIX DES INHIBITEURS

EXPERIMENTATION SUR LE RAT

Taux tissulaire de MAO

Effets IMAO de l'iproniazide et de la tranylcypromine

Essai de la réserpine

Essai de la chlorpromazine

EXPERIMENTATION SUR LA SOURIS

Taux tissulaire de MAO

Effets IMAO de l'iproniazide et de la tranylcypromine

Essai d'une surcharge tissulaire en cuivre

Essai d'agents chélatants

Ethylènediaminotétracétate de sodium

Diéthylthiocarbamate de sodium

EXPERIMENTATION SUR LE LAPIN

Taux tissulaire de MAO

Effet IMAO de la tranylcypromine

EXPERIMENTATION SUR LE COBAYE

Taux tissulaire de MAO

Effet IMAO de la tranylcypromine.

EXPLORATION DU CATABOLISME DES CATECHOLAMINES SOUS L'EFFET DE IMAO

Excrétion de l'acide 3-méthoxy-4-hydroxymandélique chez le Lapin
et chez le Rat.

Technique

Conditions expérimentales

Résultats

CONCLUSIONS

INTRODUCTION

Si l'efficacité est la qualité primordiale du médicament, elle ne peut plus aujourd'hui constituer le but unique du pharmacologue.

Il lui paraît nécessaire de savoir comment et pourquoi le médicament est actif.

Quand il pourra répondre à ces questions, il aura non seulement amélioré la thérapeutique, mais encore il aura ouvert des voies de recherche entrevues ou insoupçonnées, en tous cas toujours fructueuses.

C'est dans le cadre de telles préoccupations que se poursuit actuellement l'étude des médicaments antidépressifs dont l'efficacité est prouvée, mais bien imparfaitement expliquée.

En découvrant l'effet inhibiteur de certains d'entre eux vis-à-vis de la monoamine-oxydase, on a cru avoir trouvé une explication. Mais, peu à peu, sont apparus des doutes et des discordances sur le rôle exact du mécanisme enzymatique.

C'est une contribution à l'étude de ce problème que nous avons tenté d'apporter dans le présent travail.

Nous avons cru devoir exposer, dans une 1ère Partie, d'abord l'état actuel de nos connaissances sur la monoamine oxydase et sur son rôle physiologique normal.

Puis, parmi les très nombreuses expériences relatives à l'inhibition de son activité, nous avons retenu celles qui nous paraissaient le mieux illustrer les difficultés d'interprétation.

Nous avons, alors, dans une 2ème Partie, choisi une méthode, dont nous avons amélioré la technique et la sensibilité, et nous l'avons appliquée à l'étude de l'action inhibitrice de médicaments anti-dépressifs chez plusieurs espèces animales et dans des conditions diverses.

.

1ère PARTIE

MONOAMINE - OXYDASE

ET

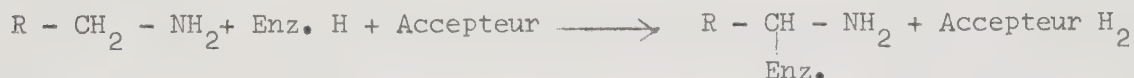
INHIBITION DE SON ACTIVITE

MONOAMINE - OXYDASE ---

L'appellation monoamine oxydase (M.A.O. - E C 1.4.3.4. - monoamine O₂ oxydoréductase désaminante) désigne un groupe d'enzymes catalysant la désamination oxydative de monoamines, en présence d'oxygène et d'eau, à un pH optimum 7,3, suivant la réaction :



Il se formerait suivant ZELLER (LEVY 1968) un complexe Enzyme - Substrat par déplacement d'un des hydrogènes en position α sur le substrat vers l'accepteur d'hydrogène.



La présence d'un H en α est donc essentielle pour la formation du complexe Enzyme - Substrat, tandis que le second H en α - s'il existe - participe au processus de déshydrogénation.

Les molécules de substrat peuvent être ajustées à la surface de l'enzyme, et les liaisons supplémentaires non essentielles assurent un meilleur rendement à la réaction enzymatique (COQ et BARON, 1968).

Deux complexes sont possibles, l'un dit eutopique conduit à la désamination oxydative, l'autre, dit dystopique, n'y conduit pas. Les deux complexes peuvent se former. Ceci explique qu'on doive expérimentalement distinguer l'efficacité de l'enzyme vis-à-vis d'un substrat, et la perte d'activité (l'inhibition) qu'il subit (FULLER et WALTERS 1965).

La monoamine oxydase fait partie des amino-oxydases parmi lesquelles elle est individualisée par les caractères suivants :

- Ses substrats ont la fonction amine en bout chaîne. Cependant l'histamine qui présente cette disposition n'est pas un substrat.

- Elle résiste à la semicarbazide (1mM)

Elle se distingue ainsi des diamine oxydases qui catalysent non spécifiquement l'oxydation de l'histamine et sont sensibles à la semi-carbazide.

La monoamine oxydase a fait l'objet de revues d'ensemble importantes (DAVISON, 1958 - ZELLER et FOUTS, 1963 - TISSARI, 1965 - GORKIN, 1966 - LABADIE, 1968 - LEVY, 1968).

REPARTITION TISSULAIRE

L'enzyme a été recherché dans les différents organes en mettant au contact du tissu un substrat dont la désamination est révélée par dosage chimique. Il est à noter que le composé aldéhydique formé est souvent transformé en acide du fait de la présence d'une deshydrogénase.

Aux méthodes chimiques se sont ajoutées ces dernières années les méthodes histologiques qui ont permis de mieux préciser la localisation cellulaire.

Il y a de la MAO dans la plupart des tissus, mais l'activité y est très différente. D'une façon générale, la plus haute activité se trouve dans le foie (cellules parenchymateuses) et dans le tractus digestif (fundus de l'estomac et épithélium muqueux de l'intestin). Le taux d'enzyme est élevé dans l'utérus, la rate (dans quelques espèces) ; il y en a moins dans le rein (partie proximale des tubes). Sa présence dans la médullo surrénale est discutée ; l'accord n'existe pas non plus sur le taux d'enzyme dans le coeur.

Il y a une activité MAO dans les cellules rétiniennes, dans la peau humaine, spécialement dans les fibres nerveuses cutanées, dans le système sympathique en particulier dans certains ganglions.

Dans le cerveau, l'hypothalamus apparaît comme la région la plus riche, ainsi que la barrière sang - cerveau. Les travaux histologiques ont révélé que la localisation cérébrale la plus importante de MAO se trouvait dans le noyau interpedonculaire et dans le locus coeruleus. L'activité MAO est élevée dans le lobe nerveux de l'hypophyse ; sa présence dans l'épiphyse est mise en doute (COUTEAUX et coll. 1965).

Le sang ne contiendrait pas de MAO, même durant la grossesse malgré le taux élevé dans le placenta humain, cependant ROBINSON et coll. (1968) viennent de décrire deux MAO, l'une dans le plasma, l'autre dans les plaquettes.

L'activité enzymatique globale d'un organe est constante pour une même espèce. Dans le cerveau humain sa variation serait inférieure à 10 p. 100 (COUTEAUX et coll. 1965 et LEVY 1968), dans le foie de Souris inférieure à 13 p. 100 (ZELLER et FOUTS, 1963). Des variations assez importantes ont toutefois été observées chez le Lapin (WEINER, 1960).

Une particularité semble distinguer la MAO du coeur de Rat. Son apparition en fonction de l'âge est beaucoup plus tardive que celle de la plupart des autres enzymes, et il a été assez surprenant de constater que l'activité croît proportionnellement au poids de l'animal, comme l'a montré NOVICK (1961) sur des Rats dont le poids s'est élevé jusqu'à 600 g. Dans aucun autre tissu, on ne constate cette augmentation, une fois atteint un maximum d'activité (entre 6 à 12 semaines suivant le tissu) . Il s'agit donc bien d'une variation spécifique du coeur. Elle est également spécifique du Rat puisqu'on ne la retrouve pas chez la Souris, le Cobaye, le Lapin (HORITA 1967).

Il est intéressant de remarquer que cet accroissement de l'activité MAO est plus rapide chez le mâle que chez la femelle. Il faut en tenir compte si on suit l'augmentation d'activité enzymatique en fonction de l'âge (HORITA).

Enfin, on constate un changement dans la répartition cellulaire de l'enzyme : elle se trouve dans des granules épars chez le jeune Rat, et sous forme diffuse chez le Rat âgé (STUDER et Coll., 1964). Cette observation met en évidence l'importance des formes libre et liée des enzymes en relation avec les médiateurs chimiques.

LOCALISATION CELLULAIRE

La répartition de MAO dans le foie de Rat a été étudiée à plusieurs reprises, en particulier par OSTWALD et STRITTMATER(1963), BAUDHUIN et coll.(1964), TISSARI(1965).

La plus grande partie de l'activité enzymatique est liée aux mitochondries (70 à 75 p. 100) et son activité dépend de l'état de ces mitochondries (le gonflement de celles-ci stimule l'oxydation de substrats). La liaison de l'enzyme aux structures insolubles des membranes mitochondriales est telle, que si on réduit celle-ci en fragments de 5 à 20 μ , l'activité enzymatique n'est pas touchée. Si la dissociation est plus prononcée, les subfragments peuvent acquérir une spécificité qui est différente de celle des particules originelles.

L'autre partie de l'activité enzymatique se répartirait ainsi : 12 p. 100 dans les microsomes, 6,9 dans les noyaux, 3 dans les lysosomes et 1,5 dans le surnageant.

L'enzyme non mitochondrial, trouvé expérimentalement, ne proviendrait pas d'une contamination ; c'est-à-dire qu'il y a une enzyme insoluble liée aux particules et une enzyme soluble. Le foie de Cobaye serait particulièrement riche en enzyme soluble (10 p. 100).

Dans le cerveau, MAO serait totalement lié aux mitochondries. Lorsque la fraction mitochondriale est partagée en sous-fractions, 60,7 p. 100 de l'activité se trouve dans la sous-fraction libre, 36,7 p. 100 dans celle des terminaisons nerveuses non-cholinergiques, et la sous-fraction contenant les vésicules synaptiques est inactive.

On trouve également une activité MAO autour des vaisseaux sanguins .

Il est intéressant que TIPTON (1964) ait pu préciser la localisation exacte de la MAO décelée entre les deux membranes des mitochondries dans le foie et le cerveau de Rat, car la plupart des substrats de l'enzyme ne peuvent pénétrer entre ces membranes. L'enzyme se trouve ainsi associée à la chaîne des transporteurs d'H et d'électrons qui, comme on le sait, est génératrice d'ATP.

CONSTITUTION

La constitution exacte de la MAO est inconnue. L'identification de sites catalytiques de l'enzyme ne s'appuie actuellement que sur des preuves indirectes : elles concernent le rôle d'ions métalliques, de groupements SH, de la flavine. Toutefois la présence de ces éléments est certaine dans les préparations d'enzymes purifiées.

Le cuivre paraît jouer un rôle important quoique mal précisé.

Il fait partie de l'enzyme purifiée extraite des mitochondries du foie de Boeuf (0,15 μ g/mg protéines), de Rat (0,34 μ g), et les agents chélateurs (8-hydroxyquinoline, o-phénantroline, diéthylthiocarbamate de sodium ... etc) inhibent à des degrés divers l'activité enzymatique (YASUNOBU et coll. 1968, SOURKES 1968, GORKIN 1966).

On attribue **hypothétiquement** au cuivre l'inhibition enzymatique par les hydrazines : lorsque ces substances sont mélangées à un excès d'ions Cu, leurs effets inhibiteurs sont notablement diminués (OGAWA et KUBOSAVA 1963). Il est intéressant qu'on ait signalé par ailleurs que l'activité de la céruloplasmine soit fortement inhibée par l'iproniazide (d'après GARATTINI et Coll. 1960).

Les groupements SH sont indispensables à l'activité enzymatique. En effet, celle-ci est inhibée par les substances capables de former des mercaptides, comme le mercuribenzoate de sodium. Cette inhibition est levée en présence de cystéine (SOURKES 1968, GORKIN 1966, OGAWA et KUBOSAVA 1963).

La FAD (flavine adénine dénucléotide) semble être un des groupements prosthétiques de l'enzyme (d'après YASUNOBU et coll., 1968 et LEVY 1968). On a précisé son taux dans la MAO de rein de Boeuf, et de foie de Rat (SOURKES 1968). D'autre part, une déficience en riboflavine diminuerait l'activité de MAO dans le foie de Rat et sensibiliserait l'enzyme à l'action des inhibiteurs.

PLURALITE

A la suite de ZELLER et coll. (1959) (1963), et de GORKIN (1966), on pense qu'il y a plusieurs MAO. Les expériences venant à l'appui de cette conception sont de deux ordres : en général elles ont mis en évidence des différences d'activité et de sensibilité aux inhibiteurs ; quelques-unes concernent la séparation de plusieurs enzymes.

Voici quelques-uns de ces arguments.

1° Différences d'activité suivant l'espèce vis-à-vis de mêmes substrats.

On constate que dans un même organe l'activité enzymatique est différente suivant l'espèce.

C'est ainsi que l'enzyme hépatique est environ 7 fois plus active sur la sérotonine que la cynuramine chez le Rat, tandis que chez le Lapin elle est au contraire presque 3 fois plus faible. (WEISSBACH et coll. 1960).

Vis-à-vis de la tyramine et de la sérotonine, (SJOERDSMA et coll. (1955) observent des différences notables entre les enzymes de tissus homologues de Lapin et de Rat.

Les graphiques publiés par WEINER (1960) nous ont paru résumer au mieux la différence d'activité MAO d'un même tissu. Ils représentent l'activité enzymatique d'homogénats de cerveau chez l'Homme, le Rat, la Souris, le Cobaye et le Chien appréciée sur divers substrats, dont nous n'avons gardé que les amines physiologiques (Fig. 1).

2°) Différence de sensibilité suivant l'espèce vis-à-vis de mêmes inhibiteurs

La désamination de la sérotonine par l'enzyme hépatique est davantage inhibée chez le Cobaye que chez le Rat. La tranylcypromine est 10 fois plus inhibitrice de la MAO du foie de Boeuf que du foie de Souris (SARKAR et coll., 1960).

La MAO du cerveau est inhibée avec une intensité décroissante dans l'ordre suivant des espèces, en considérant trois substances IMAO : par la pargyline, Rat - Cobaye - Souris ; par l'iproniazide, Cobaye - Rat - Lapin - Souris ; par la tranylcypromine, Rat - Souris - Cobaye (GOSCHKE, 1961).

3°) L'activité enzymatique diffère avec le tissu

Nous venons de voir que l'activité MAO est presque 3 fois plus élevée sur la cynuramine que sur la sérotonine dans le foie de Lapin,

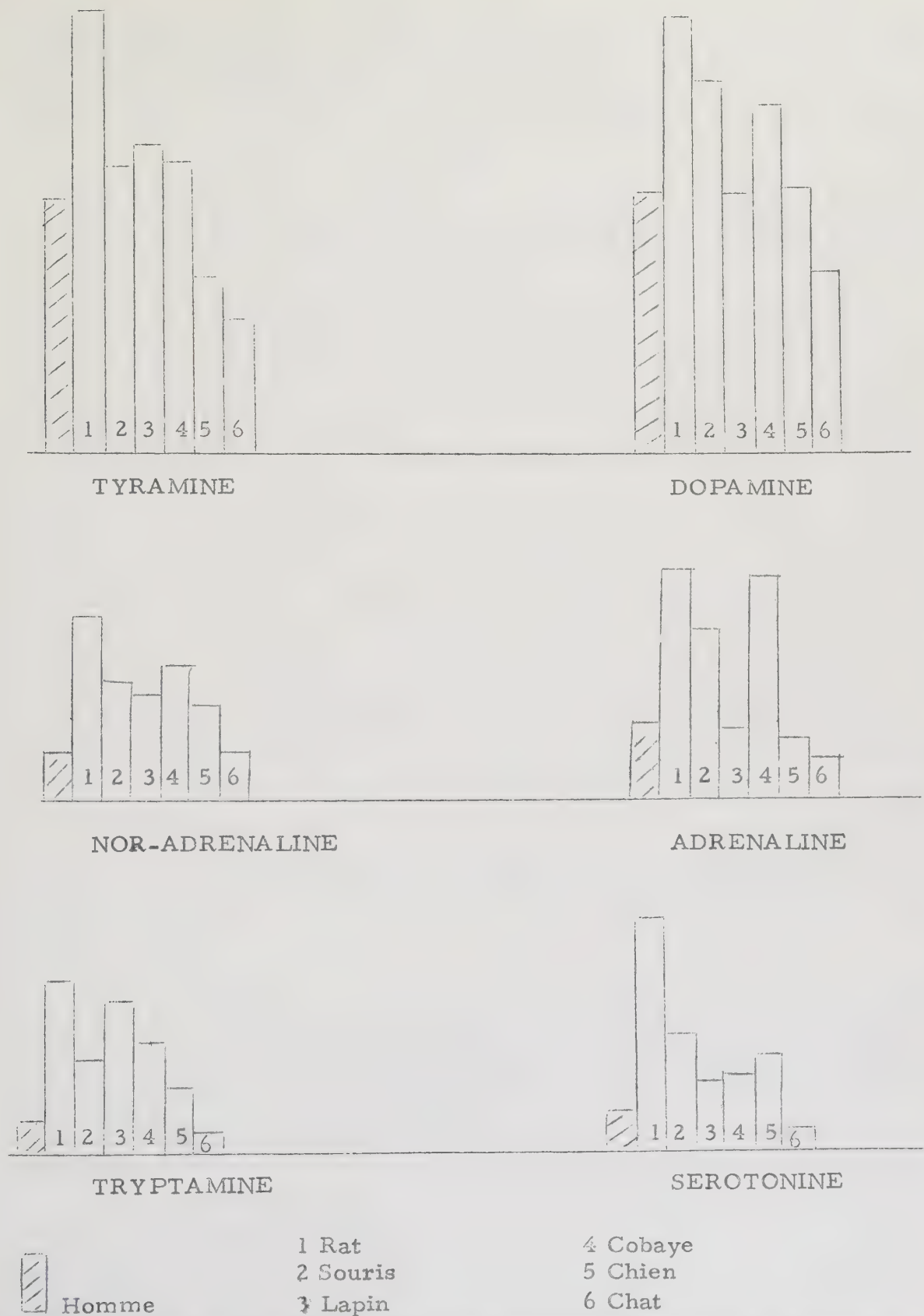


FIGURE 1 : Activité MAO d'homogénats de cerveau mesurée vis-à-vis de divers substrats (WEINER, 1960)

dans le cerveau elle est au contraire 4 fois plus faible. Chez le Cobaye, l'enzyme est plus actif sur la sérotonine que sur la cynuramine (7 fois dans le foie, 2 fois dans le cerveau environ) (WEISSBACH et coll. 1960).

4° Dans un même tissu, il y a différentes activités enzymatiques

HARDEGG et HEILBRONN (1961), GORKIN (1963), BARBATO et ABOOD (1963), COQ et BARON (1968) sont amenés à supposer qu'il y a deux sortes de MAO dans les mitochondries de foie de Rat. SQUIRES (1968) en distingue 3 chez la Souris en se basant, en particulier, sur des sensibilités inégales vis-à-vis de 2 inhibiteurs, l'harmaline et la pargyline.

En ce qui concerne la MAO cérébrale, la similitude d'activité dans toutes les régions du cerveau, qu'elle soit étudiée vis-à-vis de la sérotonine ou de la tryptamine pourrait signifier que dans le tissu nerveux il n'y a qu'une sorte d'enzyme (Mc CAMAN et coll., 1965). Cependant, étant donnée la différence de structure des substrats naturels de MAO, les catécholamines et les indoleamines, il faudrait envisager au moins deux sortes d'enzymes, une dopamine ou tyramine oxydase d'une part, et une sérotonine ou tryptamine oxydase d'autre part (WOOLSMAN, 1963).

C'est d'ailleurs vers une dualité d'enzymes ou même une pluralité qu'orientent les travaux de JOHNSTON (1968) et de SQUIRES et LASSEN (1968).

Enfin, la localisation intracellulaire de l'enzyme pourrait révéler aussi l'existence de deux MAO, puisque ZELLER et FOUTS (1963) ont trouvé que l'enzyme des mitochondries de foie de Cobaye est plus sensible aux inhibiteurs que celle des microsomes.

5° Preuves d'existence d'isoenzymes

YOU DIM et SANDLER (1967) réalisent une séparation d'enzymes en soumettant à l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide deux préparations de MAO purifiée. Ils constatent l'apparition de 3 bandes d'activité enzymatique dans le cas d'enzyme mitochondriale de foie de Rat, et de 2 bandes seulement pour l'enzyme extraite du placenta humain.

Il apparaît donc comme certain aujourd'hui qu'il n'y a pas une seule monoamine oxydase, mais plusieurs enzymes.

ROLE PHYSIOLOGIQUE

La désamination oxydative par MAO intervient à plusieurs stades du métabolisme des amines biogènes catéchiques et indoliques (mais pas sur l'histamine). On a donc tout naturellement attribué à l'enzyme un rôle de régulateur dans le taux tissulaire de ces amines. Il semble bien que son activité ne soit cependant pas limitée à ce rôle, car sa répartition est très large.

L'importance de MAO dans les deux filières est à considérer séparément du fait qu'une autre voie de dégradation - l'O-méthylation - existe pour les catécholamines d'une part, et que, d'autre part, la localisation tissulaire et intracellulaire des unes et des autres, et leur activité propre sont différentes.

Nous essayerons de dégager, dans l'apport expérimental considérable sur le sujet, ce qui a retenu davantage notre attention.

- MAO et catécholamines (Adrénaline et Noradrénaline)

Il y a deux voies enzymatiques de dégradation des catécholamines, la désamination oxydative par MAO, et l'O-méthylation par la catéchol-O-méthyltransférase, COMT. L'importance de ces deux voies, et leur ordre d'intervention ont été diversement considérés suivant qu'il s'agit du domaine périphérique ou du domaine cérébral.

La voie catabolique principale de l'adrénaline et de la noradrénaline à la périphérie est l'O-méthylation. On constate que l'adrénaline injectée est transformée pour 68 p. 100 en 3-méthoxy-adrénaline, 23 p. 100 est désaminé, oxydé, ou réduit avant l'O-méthylation, et le reste 9 p. 100 est conjugué ou excrété non changé.

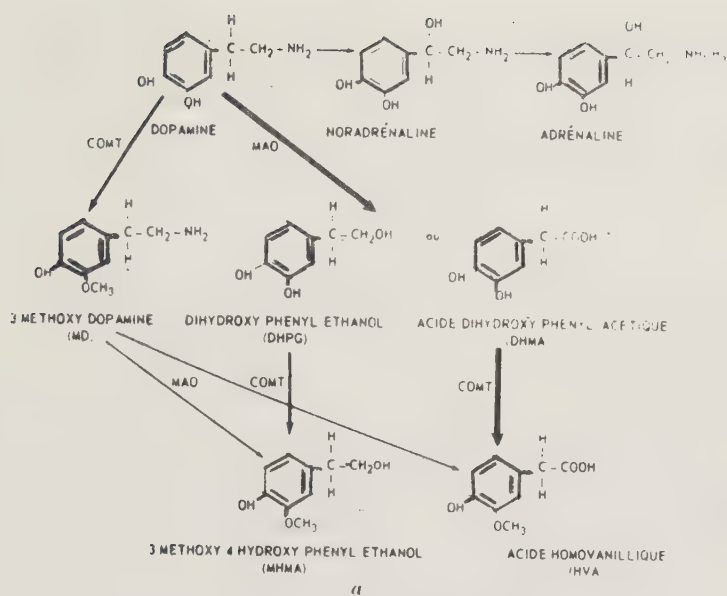
Dans le cerveau, le rôle le plus important reviendrait à MAO. Son activité y est très élevée, 10 fois plus que celle de COMT. PERKS (1964), CROUT et coll. (1961) trouvent aussi une activité MAO plus élevée dans le coeur et le cerveau de Rat, tandis qu'elle est plus faible que l'activité COMT dans le foie. Mais ces auteurs insistent sur les différences qui semblent exister entre les espèces, quant à cette relativité d'influence des deux enzymes.

D'ailleurs PERKS ne considère pas ce rôle prédominant de MAO par rapport à COMT comme une certitude. Le schéma de GLOWINSKI (1964) ne le reconnaît pas (Fig. 2).

Comme, d'autre part, la désamination oxydative concerne les amines et aussi leurs dérivés O-méthylés, il faut encore envisager l'ordre d'intervention des deux enzymes : le rôle premier revient-il à MAO ou à COMT ? (Fig. 2).

Enfin, il faut tenir compte, dans l'interprétation de résultats, de la diversité présumée des formes existantes des catécholamines car la MAO ne peut intervenir que sur certaines d'entre elles (in BOISSIER et GIUDICELLI, 1965 et LEVY, 1968).

En effet, les résultats d'expériences nombreuses où sont incluses la stimulation nerveuse et l'action de substances psychotropes, ont conduit certains en particulier KOPIN (1964), POTTER et AXELROD (1963) à penser que les catécholamines se trouvaient dans 4 compartiments de réserve, les "pools", dont-elles sont libérées dans des conditions différentes (fig. 3).



MÉTABOLISME DE LA NORADRENALE C¹⁴ IN VIVO DANS LE CERVEAU DU RAT

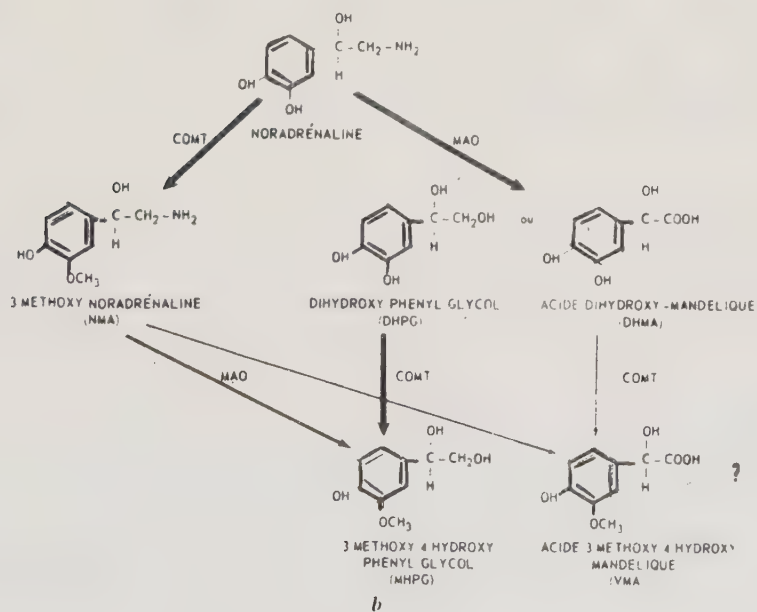


FIGURE 2 : Métabolisme cérébral des catécholamines ¹⁴C chez le Rat (GLOWINSKI, 1967)

Deux compartiments intraneuronaux : l'un superficiel insensible à la tyramine, se vide par stimulation nerveuse ; l'autre plus profond se vide sous l'influence de la réserpine, l' α méthyldopa, la guanethidine. Les amines libérées subissent l'action de MAO.

Ces deux pools sont concentrés dans des granules et constituent donc des réserves.

Un troisième compartiment cytoplasmique est une forme diffuse dans les neurones, il est résistant à la réserpine, mais sensible à la tyramine. Après leur libération les amines subissent elles aussi la désamination oxydative.

Enfin le quatrième compartiment est situé en dehors des neurones, il est sensible à la tyramine, mais insensible à la réserpine. Sa situation extraneuronale exposerait davantage les amines libérées à l'action de COMT que de MAO.

Donc NA relachée par la tyramine ou par stimulation nerveuse est d'abord métabolisée par COMT, tandis que celle qui est relachée par la réserpine subirait d'abord l'action de MAO.

On a aussi fait remarquer que MAO et NA ne se trouvent pas concentrées dans les mêmes régions du cerveau, ce qui pourrait signifier que la désamination oxydative ne se fait pas là où l'amine est stockée (CROUT et coll., 1961).

La distribution intracellulaire des catécholamines et de leurs métabolites apporte des précisions importantes (GLOWINSKI 1967 (Fig. 4). De même la répartition quantitative des métabolites dans les différentes régions du cerveau. Elle suggère une prédominance de l'un ou l'autre enzyme, MAO ou COMT, variable suivant les régions. La faible concentration de

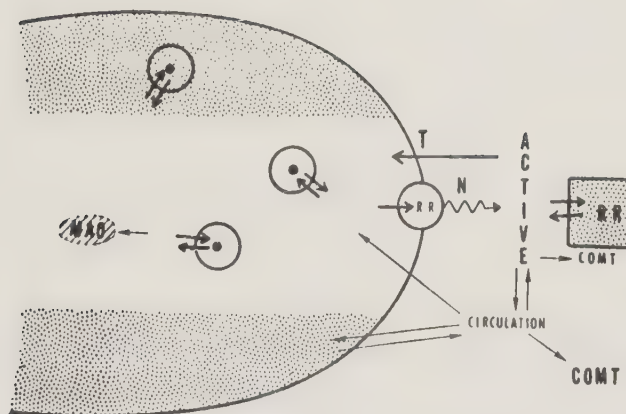


FIGURE 3 : Répartition hypothétique des différents stocks de noradrénaline au niveau des terminaisons nerveuses (KOPIN, 1964).

Les surfaces striées sont accessibles à la tyramine, les stocks RR résistent à la réserpine.

T = transport actif

N = stimulation nerveuse

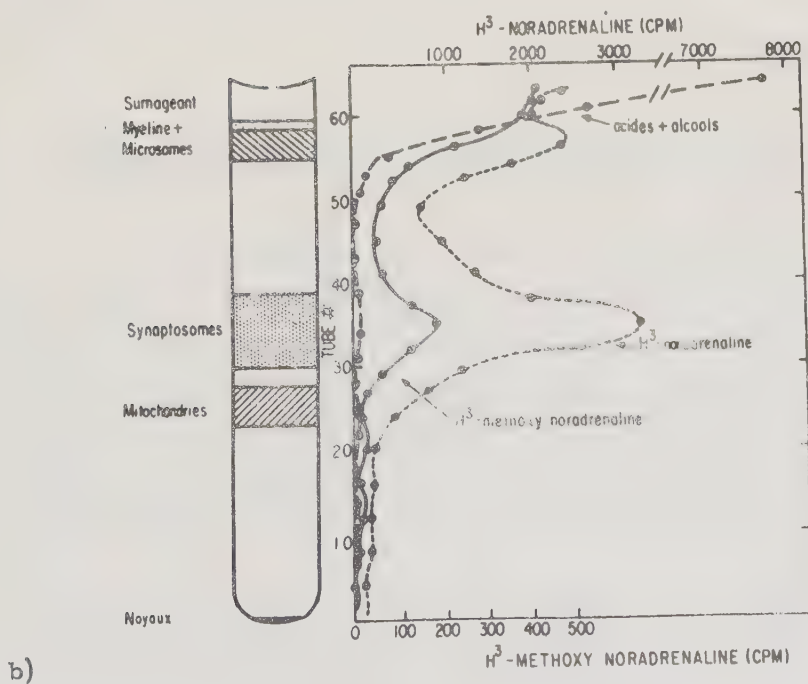
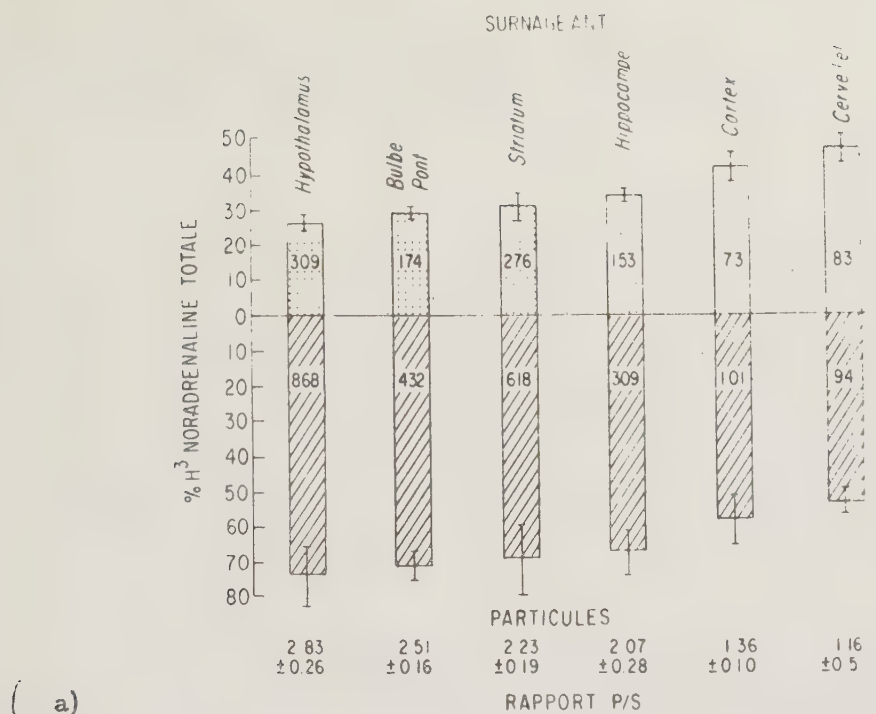


FIGURE 4 : a) Répartition de la noradrénaline ^3H entre la fraction particulaire et la fraction surénageante dans différentes régions du cerveau.
 b) Distribution subcellulaire de la noradrénaline ^3H et ses métabolites ^3H (GLOWINSKI, 1967)

métabolites dans l'hypothalamus laisse à penser que le stock granulaire y est inaccessible aux enzymes (MATSUOKA et coll., 1964).

Il ne faut pas oublier non plus que les amines ne peuvent franchir les barrières cellulaires (ou du moins très difficilement) tandis que les acides aminés précurseurs, et les formes de dégradation (en particulier les aldéhydes issues de la désamination) les traversent aisément. C'est pourquoi le métabolisme physiologique des amines synthétisées in vivo peut donc différer notablement de celui qu'on constate lors de leur administration.

L'étude de l'inhibition de MAO apporte une contribution intéressante aux problèmes soulevés par les relations de l'enzyme et des catécholamines. Nous y reviendrons ultérieurement.

- MAO et sérotonine (5-Hydroxytryptamine, 5 HT)

Dès 1955 (SJOERDSMA et coll.) la désamination oxydative a été considérée comme la voie catabolique la plus importante de 5 HT, qui paraissait être le substrat physiologique essentiel de l'enzyme (DAVISON, 1958). Le fait que BOGDANSKI et UDENFRIEND (1956) aient trouvé une distribution parallèle de MAO et de 5 HT dans le cerveau de Chat et de Chien (avec une prédominance marquée dans l'hypothalamus) confirmait cette interprétation.

Actuellement, en dehors de la ~~sulfo~~ conjugaison, on ne connaît pas d'autre voie d'inactivation de 5 HT (Fig. 5).

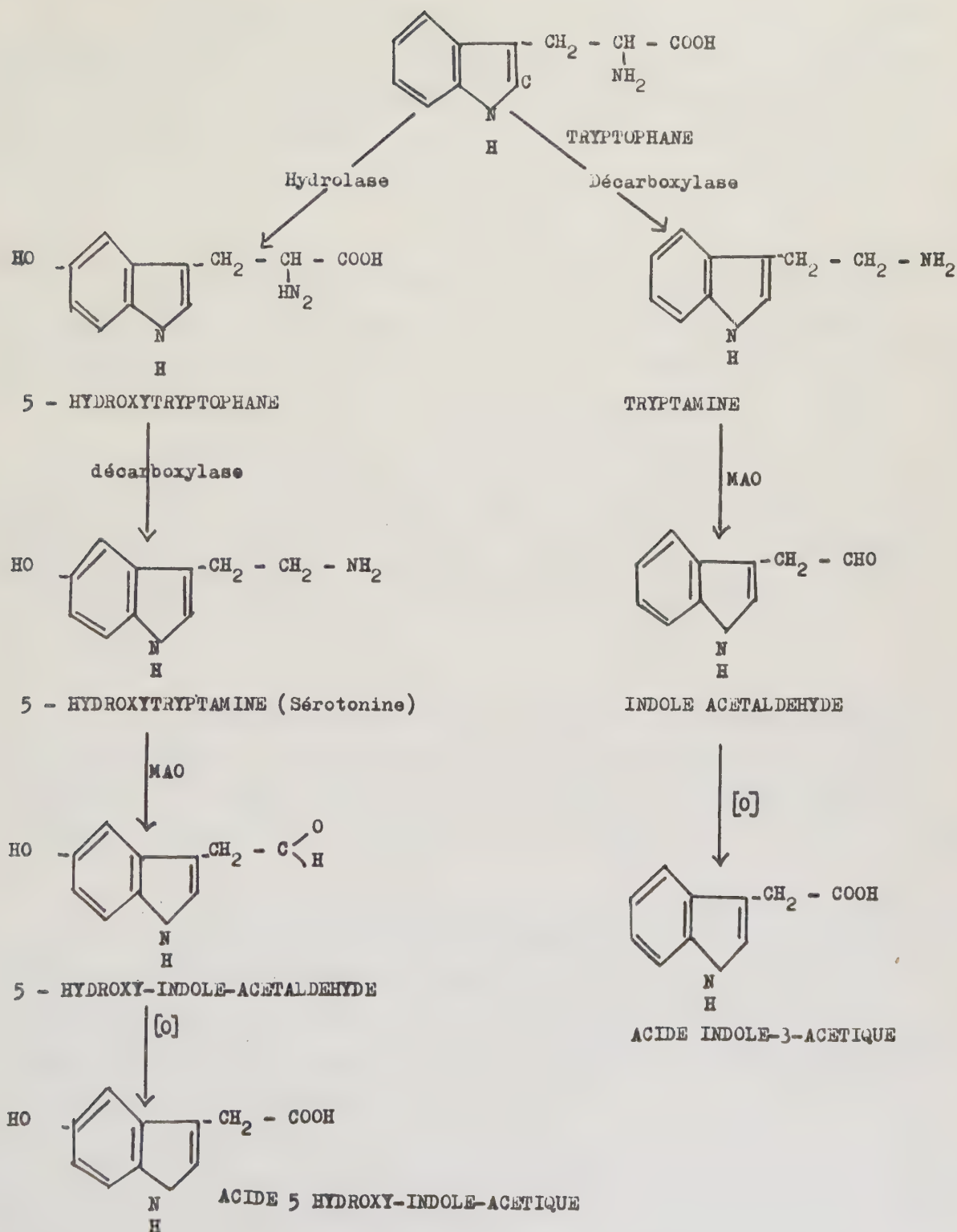


FIGURE 5 : METABOLISME DE LA 5 - HYDROXYTRYPTAMINE (SEROTONINE)

Mais alors que pour les catécholamines les rapports avec MAO présentent quelques incertitudes au niveau du cerveau, pour la sérotonine, la difficulté se présente dans d'autres tissus que le cerveau. La localisation de l'enzyme et de ses substrats dans l'intestin a attiré l'attention.

MAO est présente dans l'intestin de tous les mammifères, mais son taux varie avec les espèces ; le Rat se distinguant par sa pauvreté de même que la Chèvre, le Boeuf, le Porc et le Cheval (PENTTILA, 1968).

La répartition de l'enzyme est inégale dans les différentes couches externe et interne, l'activité est habituellement faible, elle est même nulle chez le Cobaye et la Souris ; elle est faible également dans la sous-muqueuse, elle se trouve donc concentrée dans la muqueuse (où elle est en faible quantité ou même absente chez le Rat).

Etant donné que l'intestin contient de grandes quantités d'amines biogènes, que leur signification est peu connue, on s'est tout naturellement demandé s'il y avait une relation entre la présence de MAO et la présence de ces amines (KLINGMAN et coll., 1964, PENTTILA, 1968).

Qu'il s'agisse de NA ou de 5 HT, les concentrations sont les plus élevées dans le duodénum et le jéjunum proche, et diminuent progressivement le long de l'intestin jusqu'à l'iléon distal. (Chez le Rat, le taux de NA passe de 609 à 280 μ g/g et celui de 5 HT de 5040 à 2800 μ g/g). Dans les mêmes fractions intestinales l'activité MAO subit seulement quelques fluctuations.

Les localisations diffèrent aussi au niveau cellulaire. Dans le duodénum, 5 HT est surtout liée aux granules entérochromaffines situés dans la région basale de la couche muqueuse, dans les cryptes de LIEBERKUHN. Or l'activité MAO est faible ou nulle dans cette région.

De plus, il ne semble pas qu'il y ait un rapport entre l'intensité d'activité MAO et le stockage de 5 HT. La chèvre dont le duodénum contient le plus fort taux de 5 HT possède la plus faible activité MAO. Chez la Souris c'est l'inverse, tandis que les taux de 5 HT et de MAO chez le Cobaye sont relativement élevés par rapport aux autres espèces (PENTTILA, 1968 - TISSARI, 1966).

On en a conclu qu'il n'y avait pas de corrélation chimique entre l'activité MAO et le contenu du duodénum en 5 HT. Il est curieux que KLINGMAN et coll. (1964) arrivent à la même conclusion en ce qui concerne un autre enzyme, la dopa-décarboxylase et la NA dans le duodénum.

On peut donc penser, comme le suggère PENTTILA (1968) que dans les conditions physiologiques normales la sérotonine contenue dans les granules est protégée de MAO. Elle est relâchée dans la circulation sans avoir subi son action puisqu'il n'y a pas ou peu d'enzyme dans la région des granules.

Chercher le rôle de MAO alors qu'on ne connaît pas bien celui des amines susceptibles de subir son action est bien difficile, comme l'a fait remarquer J. LEVY (1968). On peut justement se poser la question : quel est le rôle de 5 HT dans l'intestin ? (GERSHON et coll. 1965).

On sait que 5 HT circulant dans le sang, liée aux plaquettes a pour origine principale, sinon unique, 5 HT intestinale.

On sait aussi que 5 HT appliquée sur la membrane muqueuse déclenche une motilité intestinale vigoureuse, donc elle pourrait participer à la régulation de la motilité, être à l'origine d'ondes péristaltiques spontanées aboutissant à l'évacuation du duodénum et du jéjunum. Par ailleurs l'introduction d'une substance hypertonique dans la partie supérieure du petit intestin entraîne des symptômes qui sont améliorés

par des antisérotonine. D'autre part, on a tout naturellement rapporté à la sérotonine les troubles diarrhéiques accompagnant les carcinoïdes.

Récemment OWEE et YEOH (1968) ont étudié le relâchement in vitro de 5 HT de segments d'intestin de Lapin irrigués intérieurement et plongeant dans un bain : la sérotonine a été retrouvée en quantité trois fois plus grande dans le bain lorsque le péristaltisme est stimulé mécaniquement par distensions et compressions.

Il résulte de tout ceci que les cellules entérochromaffines auraient des fonctions différentes suivant leur localisation dans la muqueuse ; les unes libéreraient 5 HT dans la circulation, tandis que les autres l'excréteraient dans le lumen (PENTILLA, 1968). Cette dualité de fonctions trouve d'ailleurs un argument dans les observations histologiques montrant fréquemment 5 HT atteignant le lumen.

Nous verrons que l'expérimentation concernant les inhibiteurs de MAO permet, comme dans le cas des catécholamines, d'apprécier l'importance de l'enzyme dans le catabolisme de la sérotonine, nous verrons aussi qu'elle suggère, de plus, l'éventualité d'un autre mécanisme.

INHIBITION DE LA MONOAMINE - OXYDASE

L'inhibition de la monoamine-oxydase a été mise en évidence par la diminution d'activité que l'on constate in vivo et in vitro en présence de substances très diverses.

Amphétamine et éphédrine, éthanol et acétaldéhyde, néostigmine, brétylium, dérivés de la guanidine, dérivés de la mono et de la dithiourée, uréthane, hydroquinone, phénanthroline, xanthènes, phénothiazines et dérivés... (PLETSCHER et coll., 1966).

Parmi ces substances, nous noterons la présence

a) Des drogues sympathomimétiques (amphétamine et éphédrine) dont l'action inhibitrice de MAO aurait pu expliquer les effets stimulants ; mais on n'a pas trouvé de corrélation entre ces deux sortes d'activité . (GRANA et LILLA, 1959 - PRATESI et BLASCHKO, 1959)

b) de la phénanthroline, représentant des agents chélateurs des ions métalliques.

c) des dérivés de la phénothiazine, dont on a souligné la similitude de structure tricyclique avec celle de l'harmine. Parmi ces dérivés, le bleu de méthylène occupe une place privilégiée. Il présente la même sélectivité vis-à-vis des substrats que l'harmine (il inhibe davantage la sérotonine que la tyramine) (CHODERA et coll., 1964).

Quant à la chlorpromazine, son activité inhibitrice serait très faible (USDIN, 1961). Nous y reviendrons dans la partie expérimentale de notre Travail.

Une place à part revient aux substances dont les propriétés antidépressives voire hallucinogènes ont été attribuées, du moins en grande partie, à l'inhibition de MAO, dans l'attente d'une connaissance plus approfondie de leur mode d'action. Ce sont les médicaments dits couramment IMAO. (*)

(*) CLINESCHMIDT B.V. et HORITA A. (Biochem. Pharmacol., 1969, 18, 1011 et 1021) viennent de montrer que la MAO catalyse la dégradation d'un de ces médicaments, la phénelzine, qui apparaît ainsi être à la fois IMAO et substrat.

SUBSTANCES ANTIDEPRESSIVES, DITES IMAO

Les substances médicamenteuses utilisées dans la thérapeutique sous la dénomination commune IMAO ont fait l'objet de très nombreuses études, et les résultats ont été rassemblés dans des publications importantes. (LEVY, 1959 et 1961, LEVY et MICHEL-BERT 1965, COUTEAUX et coll. 1965, TIMSIT 1964 et 1965, PLETSCHER et coll. 1966, HORITA, WEBER 1967,....)

Ces substances, encore appelées thymérétiques pour les distinguer des thymoanaleptiques, comportent soit la fonction hydrazide, soit la fonction hydrazine, soit la fonction amine. (Tableau 1).

On classe les IMAO en deux groupes :

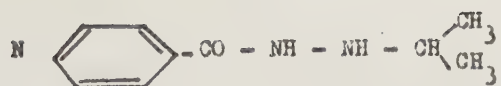
1) IMAO à longue durée d'action ; celle-ci se poursuit après la disparition du produit et de ses métabolites. Ils sont dits irréversibles : dérivés de l'hydrazide et de l'hydrazine, la tranylcypromine, la pargyline (Fig. 6).

2) IMAO à courte durée d'action, dits réversibles, parmi lesquels les dérivés de l'harmane.

Ces substances, qui possèdent un H en α nécessaire pour la formation du complexe Enzyme - Inhibiteur, entrent en compétition avec les substrats de MAO. Ils peuvent aussi entrer en compétition entre eux, ce qui indique des différences d'affinité évidentes entre ces IMAO et l'enzyme (COUTEAUX et coll. 1965).

Hydrazides

IFRONIAZIDE



Isopropylhydrazide de l'acide isonicotinique

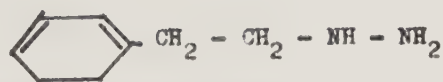
NIALAMIDE



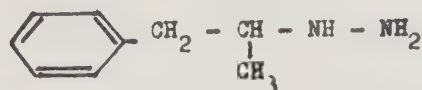
Benzyl-carbamoyl-ethyl-hydrazide de l'acide isonicotinique

Hydrazines

PHENELZINE

 β phényl-éthyl-hydrazine

PHENIPRAZINE

 β phénylisopropylhydrazineAmines

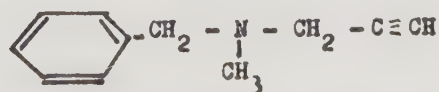
TRANILCYPROMINE

SKF 385



Trans-1-phényl-2-cyclopropylamine

PAROXYLINE



HARMINE

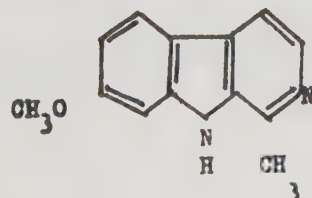


TABLEAU 1 : Dénominations de quelques antidépresseurs IMAO

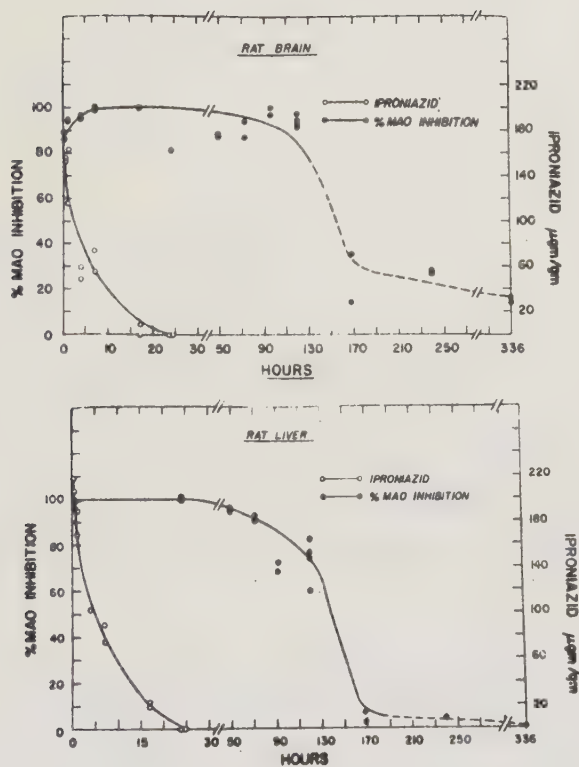


FIGURE 6 : Inhibition de la MAO et concentration de l'iproniazide à différents temps dans le cerveau et dans le foie de Rat après administration d'iproniazide (195mg/kg/i.p.) (HESS et coll. 1958)

Conséquences de l'inhibition de MAO

In vivo, dans les limites de ce que nous savons actuellement, l'inhibition de MAO doit maintenir la mise en réserve des amines, donc augmenter leur taux. Nous avons vu que le rôle de MAO était mal défini et nous avons dit que l'étude de l'inhibition de l'enzyme pouvait apporter une contribution notable dans la question.

1° IMAO et catécholamines

L'influence des IMAO sur le taux des catécholamines se présente de façon assez contradictoire. Il y a à cela deux raisons principales. D'une part, dans un même tissu, il y a une double possibilité catabolique enzymatique et plusieurs sortes de réserves comme nous l'avons dit précédemment ; d'autre part, suivant l'espèce, la réponse aux IMAO n'est pas la même.

A la lecture des documents concernant l'action des IMAO sur le taux cérébral de catécholamines, on constate que certaines expériences ont conduit à une élévation de NA, tandis que d'autres ne s'accompagnaient pas de modification de taux global de cette amine.

Voici quelques expériences ayant conduit à ces deux sortes de résultats.

a) L'administration d'IMAO a provoqué une augmentation du taux cérébral de NA.

De nombreux auteurs dont PLETSCHER et coll. (1956), CROUT et coll. (1956), GREEN et ERICKSON (1962), HUERTAS (1965) concluent de leurs expériences à une augmentation du taux de NA du cerveau sous l'influence de divers IMAO administrés par des voies différentes (Fig. 7).

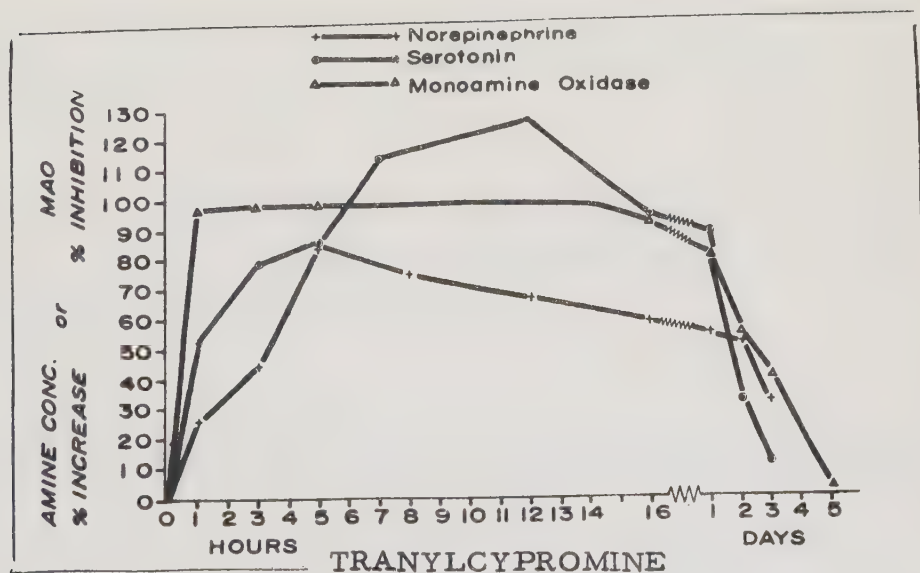
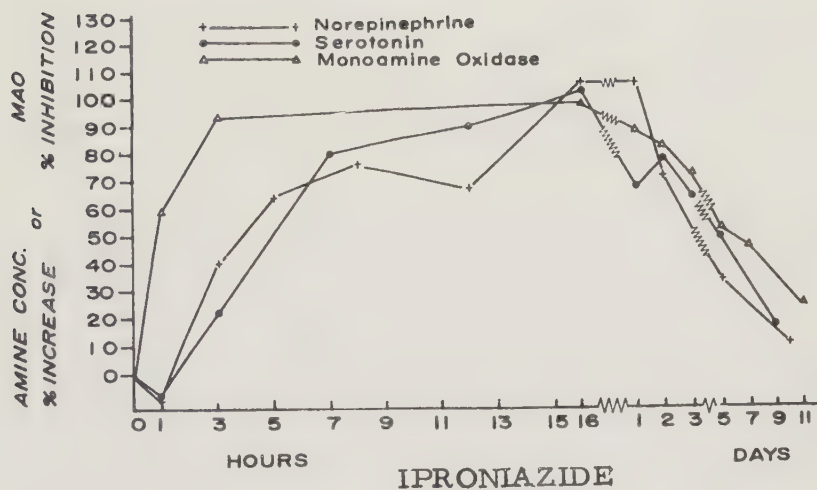


FIGURE 7 : Effets de l'iproniazide (100 mg/kg/v.o.) et de la tranlycypromine (5 mg/kg/v.o.) dans le cerveau de Rat (GREEN et ERICKSON, 1962)

Toutefois, il convient de remarquer que les IMAO ont été souvent utilisés en doses répétées.

Lorsque l'animal est préalablement traité par la réserpine, qui diminue le taux de catécholamines comme celui de 5 HT, l'influence antagoniste de l'IMAO se traduit par une moindre diminution de NA.

Cet effet est considéré comme s'étant manifesté tout particulièrement au niveau du stockage résistant à la réserpine ; ce lieu n'a pu justement être mis en évidence qu'autant qu'un IMAO avait bloqué l'enzyme. Il reste cependant à expliquer qu'une faible dose de nialamide (10 mg/kg) fasse apparaître cette réserve dans le coeur de Rat, tandis que des doses plus élevées sont moins efficaces, et que d'autres IMAO sont sans effet. (CARLSSON et WALDECK, 1967).

Le petit stock résistant à la réserpine apparaît actuellement comme étant peut-être le plus important fonctionnellement (HAGGENDAL et LINQUIST, 1963 - DAHLSTROM et coll., 1967).

Les examens histologiques par fluorométrie ont d'ailleurs également montré (chez le Lapin) la présence de stocks de dopamine et de 5 HT résistant à la réserpine, sauf aux doses élevées.

b) L'administration de IMAO n'a pas modifié le taux de NA

Cette constatation a été faite à l'issue d'expériences au cours desquelles l'animal a toujours reçu une seule dose de médicament. (ROWE, 1959 - SCHNEIDER et coll. 1959 - CARLSSON et Coll. 1962 - in JOHANNPETER 1963).

WOCHSMANN (1967) conclue que le métabolisme de NA est peu ou pas touché par les IMAO.

Une des principales explications de la contradiction des résultats nous paraît être dans les conditions expérimentales, en particulier l'effet répété de l'IMAO, la réaction relativement tardive de NA dont le renouvellement est plus lent que celui de 5 HT ; il faudrait peut être aussi tenir compte de la valeur du dosage des catécholamines exécuté suivant des techniques plus ou moins sûres. Enfin, l'espèce animale est à considérer : sous l'influence de IMAO le taux de NA du coeur augmente chez le Rat et chez le Lapin, tandis qu'il n'est pas touché chez la Souris et Chez le Chat, ce qui a été attribué à une moindre richesse en MAO ; l'absence d'augmentation de NA est confirmée dans le cerveau de Chat et de Chien (SPECTOR et coll. 1960).

Il faut tenir compte de l'intervention de COMT. Le taux de NA, après s'être élevé sous l'influence d'un IMAO s'abaisse alors que l'inhibition enzymatique de MAO se poursuit (GREEN et SAWYER 1962).

Enfin, il a été prouvé que l'élévation du taux de NA dans le cerveau et le coeur après administration d'un IMAO (pargyline) est accompagnée d'une réduction de synthèse de l'amine peut-être par une régulation automatique (NEFF et COSTA, 1966).

2° IMAO et sérotonine

La sérotonine tissulaire est très sensible aux IMAO. Son taux subit toujours sous leur influence une élévation notable, parfois très importante aussi bien dans le cerveau qu'à la périphérie. Si bien que le dosage de 5 HT cérébral a souvent été considéré comme un test d'évaluation d'une activité IMAO (SPECTOR et coll. 1960 - HUERTAS, 1965).

De même, le taux d'élimination urinaire de l'acide 5-hydroxy-indolacétique, principal métabolite de 5 HT après sa désamination oxydative.

Cette élimination est réduite sous l'influence des IMAO, tandis que celle du glucuronide de 5 HT augmente.

On peut rendre encore plus sensible l'élévation du taux de 5 HT en administrant au préalable un précurseur de 5 HT, le 5-hydroxytryptophane (5HTP). Histologiquement le surcroît d'amine dans le cerveau apparaît en situation extraneuronale et dans les cellules autour des capillaires (COUTEAUX et coll. 1965, CORRODI et coll. 1967).

Cependant certains résultats expérimentaux ne peuvent s'expliquer par la seule intervention de l'inhibition de MAO.

DUBNICK et coll. (1962) administrent à la Souris de la phénelzine à doses supérieures à celles inhibant totalement MAO. Ils constatent que le taux de 5 HT s'élève davantage. D'autre part, ce taux d'amine qui atteint 2 ou 3 fois le taux normal (suivant la dose) diminue assez rapidement entre 12 et 24 heures, malgré le maintien d'une inhibition profonde de MAO ; il reste toutefois pendant plusieurs semaines supérieur à la normale.

De leur côté, GEY et coll. (1963) constatent, chez le Rat, qu'il faut une beaucoup plus grande quantité d'IMAO pour doubler le taux de 5 HT du cerveau que pour inhiber 50 p. 100 d'activité enzymatique (10 à 12 fois plus d'iproniazide, 5 à 6 fois plus de tranylcypromine et de nialamide).

PARMAR et coll. (1967) ne trouvent pas de corrélation entre l'augmentation de 5 HT et l'inhibition de MAO.

On peut donc penser que l'augmentation de 5 HT est due, au moins en partie, à d'autres facteurs que l'inhibition de MAO. L'inhibition

d'autres enzymes ou le blocage de la sortie de 5 HT de ses lieux de réserve fourniraient peut-être une explication. C'est tout le problème de la sérotonine "libre" et "liée". On a d'ailleurs supposé aussi que l'action des IMAO se manifesterait seulement dans la modification du rapport 5 HT fixée/5 HT libre (d'après LEVY, 1961) .

3° IMAO et tryptamine

La décarboxylation tissulaire du tryptophane conduit à la tryptamine. Cependant, on n'en trouve, dans le cerveau des différentes espèces animales, que des traces. Ce qui semble indiquer que la décarboxylation du tryptophane ne doit pas être normalement importante. Chez l'Homme, on a estimé qu'il n'y avait pas plus de 1 à 3 mg de tryptamine formée et métabolisée par jour.

Or, l'influence des IMAO sur le sort de la tryptamine est importante ; ils prolongent la présence de tryptamine administrée et ils ~~potent~~^{ali}isent ses effets sur le coeur et la pression artérielle. L'augmentation normale de tryptamine dans les tissus et dans l'urine après injection de tryptophane est beaucoup plus importante lorsqu'on administre aussi de l'iproniazide. Ceci se traduit au niveau du cerveau par une excitation qui peut conduire à des convulsions et se terminer par la mort (expérience sur Lapin et Chien).

Dans ces conditions, l'élimination urinaire de la tryptamine a été indiquée comme un test d'activité IMAO (SJOERDSMA et coll. 1959). Cependant HESS et coll. (1961) n'ont pas trouvé de corrélation entre le taux de tryptamine et l'activité IMAO. Ce dosage est d'autant plus intéressant que la tryptamine urinaire ne trouverait pas son origine dans l'intestin, où pourtant les bactéries peuvent décarboxyler le tryptophane. En effet, 'lorsqu' on administre de grandes quantités de tryptamine par voie orale à l'Homme on ne constate pas d'augmentation appréciable dans l'excrétion de l'amine (DEQUATTRO et SJOERDSMA 1967).

4° IMAO et autres amines

Pour être complet, il faudrait envisager les modifications éventuelles subies par les différentes amines des deux filières conduisant à la noradrénaline et à la sérotonine. Pour n'en citer qu'une, nous dirons que la dopamine augmente très nettement après administration de IMAO, et qu'elle apparaît comme un excellent substrat de l'enzyme.

Inhibition de MAO et effet anti-dépressif

Le chef de file des thymérétiques, l'iproniazide est entré dans la thérapeutique des états dépressifs en raison de ses propriétés euphorisantes qui l'opposaient à la réserpine. Cette dernière possède des propriétés sédatives et vide les stocks tissulaires de catécholamines et de sérotonine : on y a vu la cause de la sédation qu'elle provoque (tout récemment GAL et MILLARD (1968) ont montré que l'action sédative ne dépendait pas directement des changements concernant le taux de sérotonine).

Inversement, l'euphorie procurée par l'iproniazide pouvait donc être attribuée à une augmentation du taux de catécholamines et de 5 HT dans le cerveau. Or ZELLER et coll. (1952) avaient découvert que l'iproniazide était inhibiteur de MAO. Cette inhibition pouvait entraîner une augmentation du taux cérébral des amines, dont la synthèse se poursuivait tandis que la désamination oxydative était suspendue.

La relation : inhibition de MAO $\longrightarrow$ effet antidépresseur, devait être une hypothèse fructueuse.

Dans cette éventualité, on peut se demander quelle est la part de la sérotonine et des catécholamines.

En faveur de la participation de la sérotonine, il y a la constante élévation importante de 5 HT cérébrale sous l'effet d'IMAO. C'est à elle que CORRODI (1966) attribue les mouvements stéréotypés de la Souris recevant de fortes doses de nialamide (500 mg/kg i.p.). Mais de tels effets n'ont peut être que peu de rapport avec ceux qu'on attend d'une action thérapeutique, étant donnée la dose très élevée.

En ce qui concerne les catécholamines, BRODIE et coll. (1959) et SPECTOR (1963) constatent que l'action antidépressive ne se manifeste chez l'animal que lorsque le taux de NA s'élève, c'est pourquoi elle ne s'observe pas chez le Chien, où IMAO ne paraît pas modifier le taux de NA.

HAGGENDAL et LINQUIST (1963), DAHLSTROM et coll. (1967) attirent l'attention sur le petit stock de NA considéré comme fonctionnellement important. Justement, la récupération de ce stock coïncide avec la reprise d'un comportement normal de l'animal mis en état de sédation par la réserpine.

Par ailleurs, nous avons déjà mentionné que la tryptamine était très sensible à l'action des IMAO, on n'a cependant pas trouvé de corrélation entre l'inhibition de MAO et l'augmentation des effets excito-moteurs de cette substance chez le Rat et la Souris. Prudemment, les chercheurs n'en déduisent pas que l'accumulation d'amines sous l'effet d'IMAO n'intervient pas (DENYS et coll. 1965).

Il est évident que l'apport en tryptophane de la nourriture est susceptible de jouer un rôle dans l'intensité d'action des IMAO. SJOERDSMA et coll. (1959) ont montré que le tryptophane produit des symptômes analogues à l'ivresse lorsqu'il est administré à des malades recevant

des IMAO. Et ces auteurs signalent le fait que LAUER et coll. (1958) aient eu l'impression que l'administration de tryptophane et d'iproniazide ait été plus efficace dans le traitement de la schizophrénie que l'iproniazide seule.

On a pensé aussi à une régulation s'exerçant par les IMAO sur les métabolites et non sur les amines.

Mais vouloir trouver une relation entre l'inhibition de MAO et l'activité antidépressive n'est peut être pas la bonne voie. En effet, on a constaté que des antidépresseurs d'efficacité différente avait un pouvoir IMAO identique, et que, d'autre part, une forte action IMAO pouvait ne s'accompagner que d'une faible activité antidépressive. (POPOV et MATTHIES, 1967).

D'autres hypothèses sont concevables.

On a montré que les IMAO pouvaient avoir un effet direct sur la synthèse et le stockage des amines (DUBNICK 1962, et d'après SQUIRES LASSEN 1968, LEVY 1960).

On a suggéré que les IMAO pouvaient intervenir en augmentant la fixation tissulaire des amines biogènes, l'élévation de leur taux correspondant alors plutôt à un défaut de mobilisation. Dans cette perspective suggérée par ZBINDEN l'effet anti-dépressif pourrait être regardé comme le résultat d'un manque d'amines libres, plutôt que d'un excès de stockage. L'expérience n'a pas encore pu départager la valeur hypothétique des deux points de vue (d'après LEVY 1960).

Enfin, des recherches ont été orientées vers des mécanismes biochimiques concernant les acides aminés. MEO et coll. (1965) ont constaté une augmentation notable de l'acide delta-aminolévulique chez le Rat sous l'effet de l'iproniazide. En 1967, POPOV et MATTHIES ont signalé l'élévation du taux de GABA dans le cerveau de Rat après administration de phénelzine, mais non de tranylcypromine. Fait curieux, la réserpine abaisse le taux de GABA, mais en présence de phénelzine on assiste au contraire à une forte élévation.

Il n'est donc pas encore possible de relier l'effet thérapeutique antidépressif des thymérétiques à leur seule activité IMAO.

TESTS D'ACTIVITE IMAO

Il y a deux sortes de tests : d'une part les tests physiologiques mettant en oeuvre les conditions expérimentales capables de révéler dans le comportement de l'animal une intervention de ces antidépresseurs et, d'autre part, les tests biochimiques faisant appel à l'appréciation quantitative directe ou indirecte de l'inhibition de la MAO.

Tests physiologiques

Les tests physiologiques consistent en des réactions d'antagonisme ou de synergie. La plupart sont basés sur les deux antagonismes IMAO-Réserpine, et IMAO-précurseurs des amines biogènes (LEVY, 1961).

Tests biochimiques

Ils peuvent être exécutés soit par des méthodes histologiques, soit par des méthodes chimiques.

1) Appréciation directe de l'inhibition de MAO

a) Méthodes histologiques

Elles sont utilisables sur coupes de tissus congelés.

Elles mettent en évidence par des réactifs appropriés la désamination oxydative de substrats aminés conduisant à la formation d'aldéhydes. COUTEAUX et coll. (1965) ont fait une étude critique de ces techniques et indiqué les résultats intéressants qu'elles fournissent, sur la localisation exacte de l'activité enzymatique et sur son inhibition par les IMAO.

b) Méthodes chimiques

Elles consistent à apprécier la perte d'activité MAO d'un tissu soit après addition de l'inhibiteur in vitro
soit après administration de l'inhibiteur à l'animal.

Dans ce but, on met en contact des homogénats tissulaires ou les mitochondries isolées, avec un substrat de l'enzyme.

Après des temps variables d'incubation, on fait l'une ou l'autre des déterminations suivantes :

- consommation d'O₂
- taux de NH₃ dégagé
- quantité de substrat restant
- quantité de métabolite formé.

2) Appréciation indirecte de l'inhibition de MAO

a) Méthodes histologiques

Ces méthodes sont basées sur les réactions de fluorescence des catécholamines et de la sérotonine. Elles permettent d'apprécier l'augmentation éventuelle de celles-ci sous l'influence d'IMAO.

b) Méthodes chimiques

Elles sont basées, d'une part sur le dosage des catécholamines et de la sérotonine dans les tissus et, d'autre part, sur le dosage de ces amines et de leurs métabolites dans les urines.

Nous allons voir de manière plus précise les méthodes chimiques d'appréciation directe de l'inhibition de MAO basées sur les mesures d'activité MAO.

METHODES CHIMIQUES DE MESURE D'ACTIVITE DE MAO

1) Choix de la préparation tissulaire

L'animal est en général sacrifié par section des carotides, bien qu'il ait été indiqué que l'anesthésie ne modifiait pas les résultats. Les organes sont immédiatement prélevés et traités ou conservés dans la glace.

Le dosage de MAO se pratique soit sur l'homogénat total, soit sur la fraction mitochondriale connue pour renfermer la plus grande partie de l'enzyme.

Dans le premier cas, on prépare l'homogénat par broyage du tissu dans 5 à 10 parties d'eau froide. On prélève une partie aliquote.

La fraction mitochondriale des tissus est obtenue par centrifugation différentielle.

Il est bien évident que les deux sortes de préparations ne sont pas identiques. Etant donnée la pluralité reconnue de la MAO, l'élimination de la fraction microsomale et de la fraction soluble prive les tissus d'une partie des enzymes.

Lorsqu'on fait agir in vitro les substances IMAO sur les deux sortes de préparations tissulaires, les résultats ne sont évidemment pas identiques suivant qu'on utilise l'une ou l'autre préparation.

ZELLER et coll. (1955) ont insisté sur la très grande différence de sensibilité entre un homogénat de foie et la fraction mitochondriale correspondante. On note également une différence dans le cortex du cerveau de Rat entre l'homogénat et les mitochondries.

Plus récemment, PENTTILA (1968) a signalé à nouveau le cas du foie. DAVISON (1957) (1958) suppose qu'il y a dans l'homogénat une substance telle que le glutathion. En effet, si on ajoute à une suspension mitochondriale du glutathion, la sensibilité à l'inhibiteur est diminuée, et le résultat est identique à celui qu'on obtient en ajoutant aux mitochondries isolées le surnageant correspondant.

Il est intéressant de constater que l'addition d'un cyanure fait disparaître le manque de sensibilité dû à la présence du surnageant, ce qui signifie peut être qu'un groupement thiol peut intervenir dans la liaison enzyme-inhibiteur.

Il est donc préférable d'utiliser les mitochondries plutôt que les homogénats où l'activité enzymatique est réduite. Mais il est évident que pour des recherches courantes d'activité enzymatique, l'homogénat convient mieux.

2) Choix du substrat d'activité MAO

La nature du substrat et la méthode de dosage interviennent beaucoup dans les résultats, qu'ils soient obtenus par des techniques chimiques ou histologiques (PENTILLA 1968) .

Nous avons, en effet, vu précédemment que l'affinité de MAO n'était pas la même pour tous les substrats lui convenant et que, d'autre

part, l'ordre d'affinité varie avec l'origine tissulaire et avec l'espèce. Il faut tenir compte également d'éventuelles compétitions entre substrats et inhibiteurs (COUTEAUX et coll., 1965).

Pour toutes ces raisons, il est parfois difficile de comparer des expériences dans lesquelles l'activité enzymatique a été appréciée différemment.

Les substrats utilisés sont :

des amines physiologiques : tyramine, tryptamine, 5-hydroxytryptamine (5 HT), adrénaline (AD) et noradrénaline (NA)

des amines synthétiques : Cynuramine, benzylamine, iodobenzylamine, butylamine, ... etc..

3) Choix des techniques

a) Mesure de la consommation d'oxygène durant la réaction (p.4

Cette mesure a été fréquemment utilisée. En général le substrat choisi est la tyramine (DAVISON, 1958 - WEINER 1960 - GEY et coll. 1964...).

Elle a été jugée comme relativement peu sensible. (GREEN et HAUGHTON, 1961). D'autre part, elle peut être rendue inexacte du fait de réactions secondaires. D'autres enzymes, catalase, peroxydase, peuvent intervenir, et on constate parfois la formation de pigments bruns. Tel est le cas, en particulier, du p-hydroxyphénylacétaldéhyde (résultant de l'action de MAO sur la tyramine) qui est instable, peut s'oxyder en acide carboxylique correspondant ou en produits résineux. (CREASEY, 1956).

L'addition de semicarbazide et de cyanure s'est montrée efficace, elle permet à la réaction de se développer suivant le schéma théorique. Mais s'il s'agit d'apprécier un effet inhibiteur in vitro, il y a une cause d'erreur possible dans l'interférence de ces deux substances : DAVISON (1957) a trouvé, en leur présence, une augmentation notable de l'activité de l'iproniazide.

b) Dosage de l'ammoniac formé

L'ammoniac produit dans la réaction est déplacé dans une enceinte de diffusion et dosé par soit acidimétrie (ZELLER et coll., 1958) (COQ et BARON, 1968), soit par colorimétrie : réaction de NESSLER ou réaction avec l'hypochlorite de sodium (SELIGSON et HIRA-HARA, 1957, BAUDHUIN et coll., 1964).

Le substrat le plus fréquent est la tyramine. On a également utilisé la sérotonine, la noradrénaline.

Le dosage est satisfaisant, mais long.

c) Dosage du substrat restant

Le dosage des substrats physiologiques est dans la plupart des cas basé sur des réactions de fluorescence spécifiques, plus rarement sur une réaction colorée (au nitroso-naphtol) (DUBNICK et coll., 1962). Le substrat restant doit être au préalable, extrait du milieu réactionnel et convenablement purifié.

La méthode a été utilisée en prenant comme substrat la tryptamine (ex : WEISSBACH et coll., 1961), la 5-hydroxytryptamine (ex : HORITA 1968), l'adrénaline et la noradrénaline (ex : SARKAR et coll. 1960 - CROUT et Coll. 1961).

Dans le cas de la sérotonine, TISSARI (1966) a proposé un dosage biologique sur estomac isolé de Rat. La sérotonine n'est pas isolée du milieu réactionnel. Il suffit de stopper la réaction par HCl, et d'ajuster au pH 7 au moment de l'utilisation.

Le dosage des substrats synthétiques se fait directement dans le milieu réactionnel ; il est basé sur l'absorption spectrale U.V. du substrat mesurée à son maximum (Cynuramine, WEISSBACH et coll., 1960) (benzylamine, TABOR et coll. 1964 - ROBINSON et coll. 1968) (iodobenzylamine, ZELLER et coll. 1965).

Il faut s'assurer que des substances inhibitrices éventuellement ajoutées dans un essai in vitro ne faussent pas la lecture par leur propre spectre, comme l'ont constaté BARBATO et ABOOT (1963) en utilisant la benzylamine dont le maximum d'absorption est à 250 m μ .

d) Dosage des métabolites formés

Ce dosage est fait de différentes manières suivant le métabolite.

Dans le cas de la tyramine, on dose le p-hydroxyphénylacétaldéhyde formé. La réaction est stoppée par l'acide acétique, les protéines précipitées par séjour de 3 mn au bain-marie bouillant, et éliminées par centrifugation. On fait la 2-4 dinitrophénylhydrazone de l'aldéhyde. On lit la coloration à 450 m μ (et non au maximum d'absorption 425 pour éviter l'interaction du spectre de la DNPH. en excès) (GREEN et HAUGHTON, 1961).

Dans le cas de la tryptamine et de la sérotonine, on convertit totalement l'aldéhyde formé en acide correspondant par addition d'un excès d'aldéhyde deshydrogénase et de DPN.

L'acide indole acétique (IAA) (provenant de la tryptamine) est extrait du milieu réactionnel par le toluène, l'acide 5-hydroxyindole acétique (5 HIAA) est séparé par chromatographie sur colonne Dowex 50 qui retient la sérotonine.

Le dosage des deux acides se fait par fluorescence. (IAA : LOVENBERG et coll., 1962 - SQUIRES et coll., 1968) (5 HIAA : SJOERDSMA et coll., 1959 - HIDAKA et coll., 1967).

Lorsque ce dosage est destiné à apprécier une activité inhibitrice in vitro, il faut s'assurer que l'inhibiteur ne réagit pas avec l'aldéhyde deshydrogénase ou avec l'acide formé.

On a aussi utilisé des substrats radioactifs, on dose alors la radioactivité de l'aldéhyde ou de l'acide formé (Mc CAMAN et coll., 1965 - WURTMAN et AXELROD, 1963 - FULLER, 1968).

En ce qui concerne la cynuramine, substrat synthétique, il est possible de doser son produit de transformation la 4-hydroxyquinoline, soit par son spectre U.V., soit par son spectre de fluorescence (WEISSBACH et coll., 1961 - KRAJL, 1965).

La méthode a été utilisée notamment par AMAR-COSTESEC et BOHUON (1965), FULLER et WALTERS (1965), TIMSIT (1965), FULLER (1968).

En résumé, on dispose, pour la mesure de l'activité MAO et par conséquent pour l'appréciation d'activités inhibitrices, de plusieurs sortes de dosages qui se distinguent surtout, les uns des autres, par le choix du substrat.

Personnellement, nous avons choisi la méthode à la cynuramine qui nous a paru être une des plus simples, du fait que le dosage ne nécessite pas d'extraction préalable.

Son étude et son application feront l'objet de la Seconde Partie de notre Travail.

DEUXIEME PARTIE

2ème PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'INHIBITION
DE LA
MONOAMINE-OXYDASE PAR LES ANTIDEPRESSIFS

DOSAGE DE L'ACTIVITE DE LA MONOAMINE - OXYDASE

PAR LA METHODE A LA CYNURAMINE

Nous avons utilisé la technique publiée par WEISSBACH et ses collaborateurs (1960) en cherchant à y apporter des améliorations.

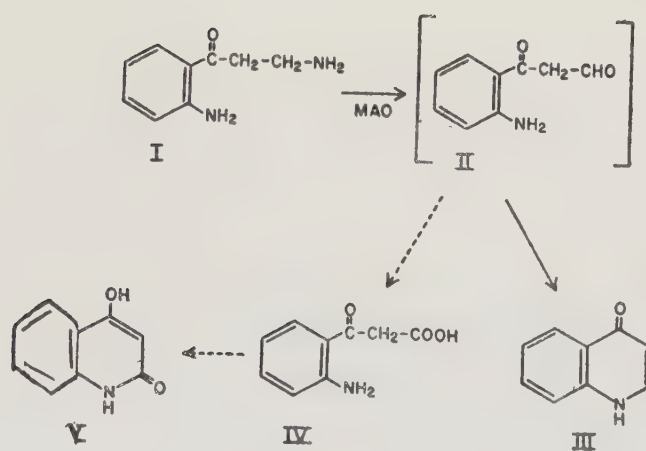
PRINCIPE

La cynuramine, produit de décarboxylation de la cynurénine, est rapidement oxydée par la monoamine-oxydase, mais non par la diamine oxydase. Elle constitue donc un substrat spécifique.

L'aldéhyde formé peut théoriquement soit se condenser pour donner la 4-hydroxyquinoline, soit subir une oxydation ultérieure en un acide ou une lactame (Fig. 8).

La cyclisation de l'aldéhyde est plus rapide que l'oxydation ultérieure de celui-ci en acide ou lactame, si bien que la 4-hydroxyquinoline (4 HOQ), qui a été caractérisée par chromatographie sur papier et absorption spectrale paraît, en fait, comme étant le produit de conversion totale de la cynuramine lors de l'incubation avec un homogénat de tissu.

CYNURAMINE



4 HYDROXYQUINOLINE

FIGURE 8 : Transformation de la cynuramine sous l'influence de la monoamine oxydase

LECTURES SPECTRALES EN U. V.

La cynuramine a un spectre d'absorption avec un maximum à 360 m μ ; tandis que le spectre de la 4 HOQ est caractérisé par 2 pics à 315 et 329 m μ . On peut donc, apprécier la disparition de la cynuramine ou l'apparition de la 4 HOQ.

La figure 9 représente le spectre de la cynuramine, la figure 10 le spectre de la 4-hydroxyquinoline, obtenus tous deux sur des solutions équimoléculaires (0,15 μ mol/ml).

La figure 11 représente le spectre du mélange en proportions inverses des solutions équimoléculaires de cynuramine et de 4 HOQ. C'est celui que l'on obtient au cours de la réaction enzymatique, où il y a disparition progressive du spectre de la cynuramine et apparition progressive de celui de la 4 HOQ.

La superposition partielle des deux spectres fait que les 2 pics caractéristiques de la 4 HOQ sont surélevés, et d'autant plus qu'il reste davantage de cynuramine.

Cette surélévation est plus importante pour le pic à 329 m μ que pour le pic à 315 m μ ; il en résulte que le pic à 329 m μ apparaît le premier et que l'absorption à cette longueur d'onde reste plus élevée tant que l'absorption de la cynuramine est importante, puis elle devient égale à celle du pic à 315 m μ , et finalement le spectre normal apparaît.

D'autre part, la superposition partielle des deux spectres fait apparaître un minimum caractéristique se plaçant aux environs de 340 m μ , point de rencontre des deux spectres. Ce point marque le départ de l'élévation soudaine de l'absorption due à la 4 HOQ. Cette particularité a retenu notre attention, nous l'avons mise à profit dans l'expression de nos résultats.

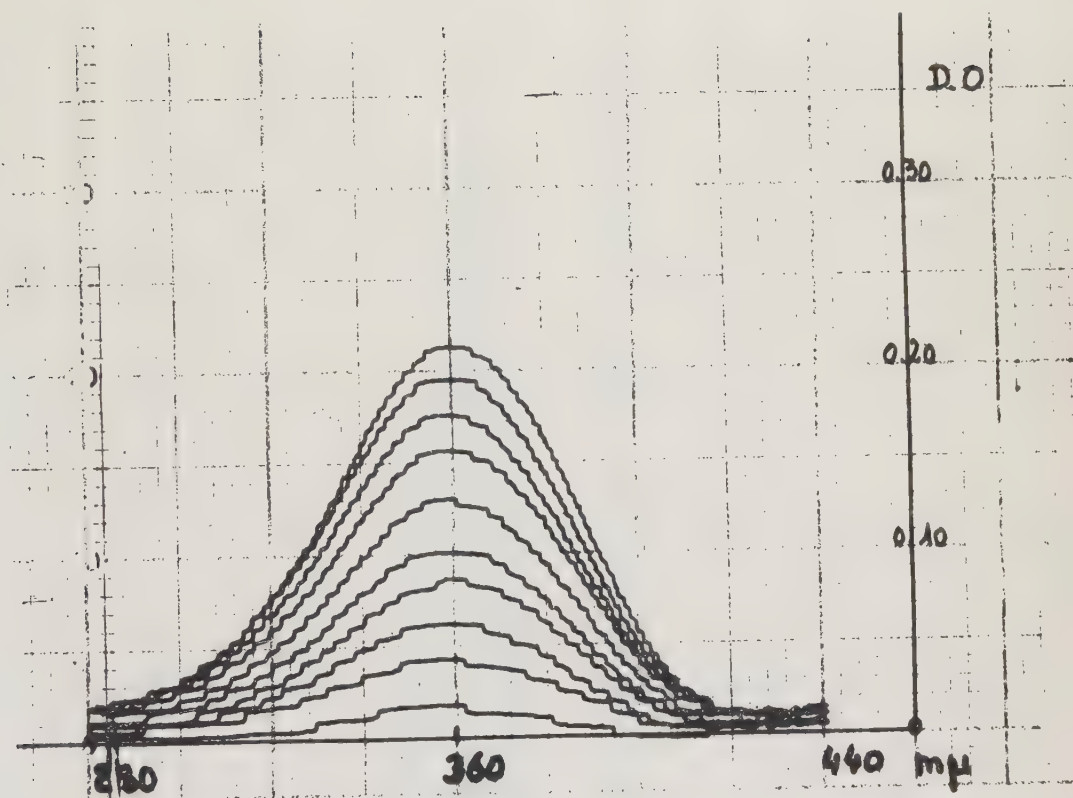


FIGURE 9 : Spectre de la cynuramine
Lectures spectrales obtenues en utilisant 0,1 à 1 ml
de solution à 0,15 μ mole/ml, et dilution à 3,05 ml.

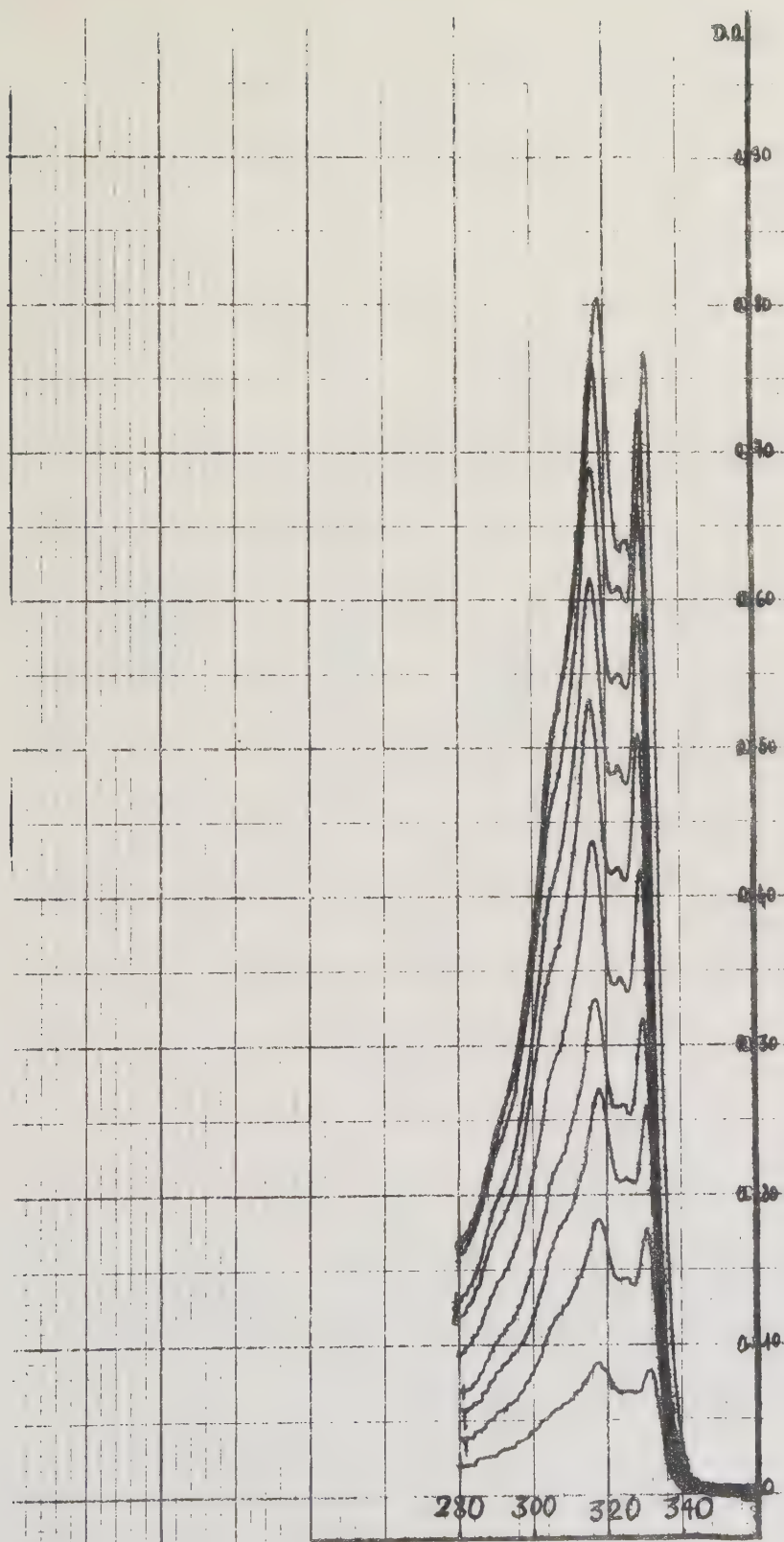


FIGURE 10 : Spectre de la 4-hydroxyquinoline (4 HOQ)
Lectures spectrales obtenues en utilisant 0,1 à 1 ml de
solution à 0,15 μ mole/ml, et dilution à 3,05 ml

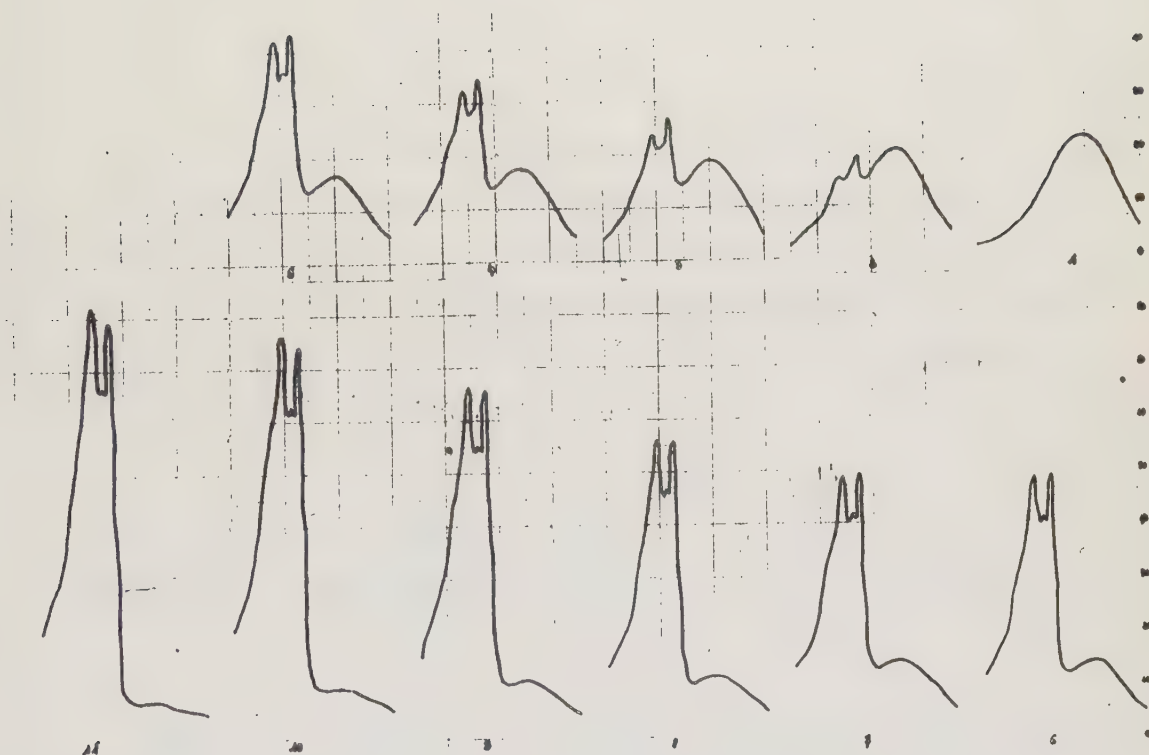


FIGURE 11 : Spectres du mélange en proportions inverses des solutions
 0,15 μ mole/ml de cynuramine et de 4-hydroxyquinoline.

de 1 à 10 : 1 à 0,1 ml cynuramine
 de 2 à 11 : 0,1 à 1 ml 4 HOQ

SPECTRE DE FLUORESCENCE DE LA
4-HYDROXYQUINOLINE

En 1965, KRAJL a proposé de doser la 4 HOQ formée par fluorescence. En effet, cette substance en milieu sodique (NaOH N) possède une fluorescence qui, excitée à $315\text{ m}\mu$, présente un maximum à $380\text{ m}\mu$. La cynuramine à concentration 10 fois plus forte que 4 HOQ ne donne pas de fluorescence appréciable. Dans le dosage, le spectre ne sera donc pas modifié par la présence de la cynuramine.

Nous avons représenté sur la figure 12, les spectres obtenus au cours d'une réaction enzymatique tissulaire avec l'appareil SPECTRALUX-Safas.

L'absorption spectrale en U.V. et l'intensité de fluorescence se sont traduites, dans nos conditions expérimentales par des graphiques d'un même ordre de grandeur, comme le montrent les figures 10 et 12.

Ces conditions expérimentales, que nous allons préciser, améliorent cette technique, car l'auteur réalise une déprotéinisation par l'acide trichloracétique qui diminue beaucoup la fluorescence.

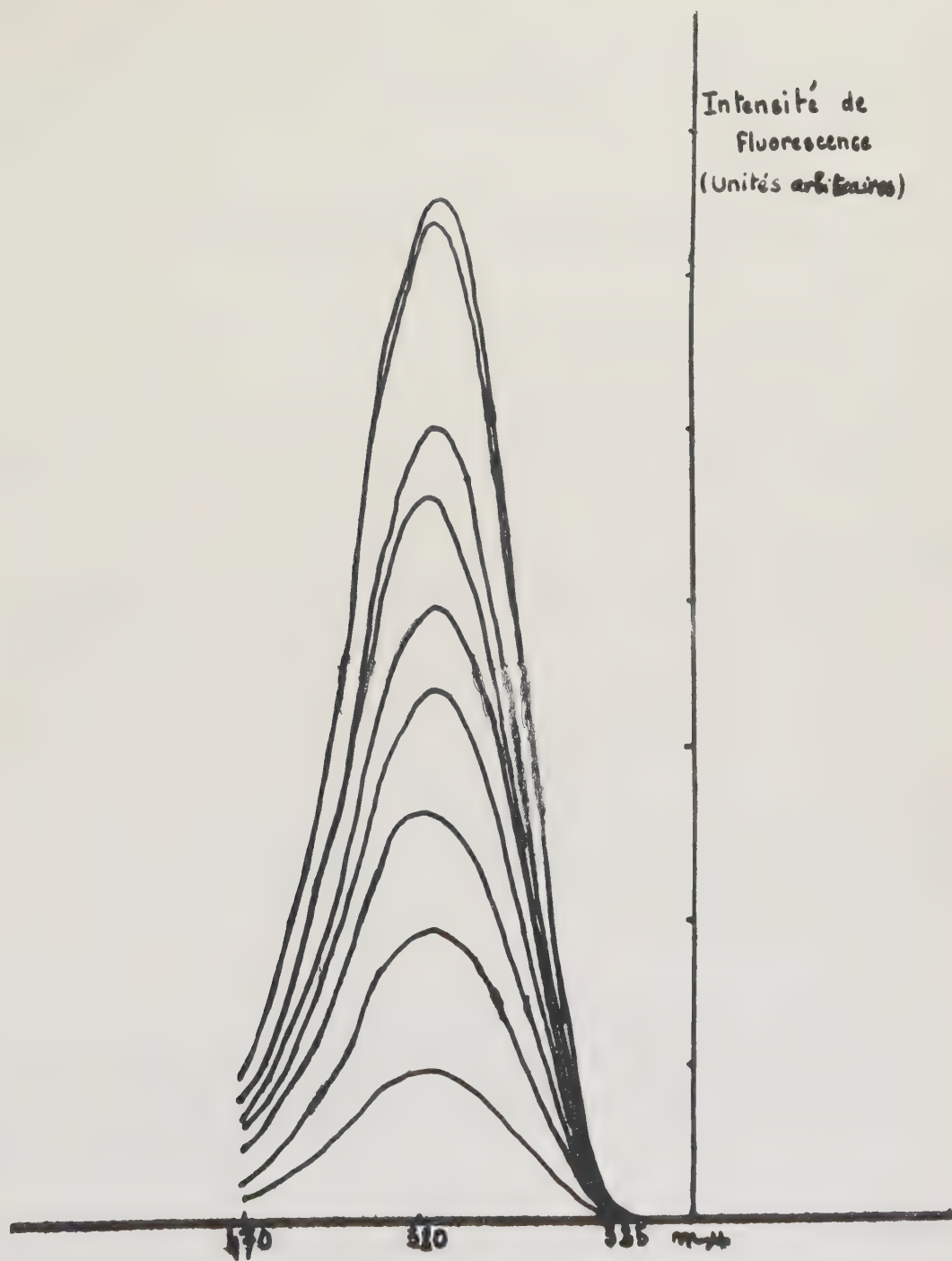


FIGURE 12 : Spectre de fluorescence de la 4 - hydroxyquinoline

APPLICATION A L'ANALYSE DES TISSUS

Améliorations des conditions expérimentales

Nous avons d'abord utilisé la technique de WEISSBACH et coll., en adoptant les conditions expérimentales de TIMSIT (1965), que voici :

Le tissu est homogénéisé dans 10 volumes d'eau froide. L'homogénat est centrifugé à 1000 t/mn pendant 15 mn puis filtré à travers un filtre en verre fritté n° 3.

- 1 ml d'homogénat (soit 100 mg de tissu)
- 0,15 μ mole de bromure de cynuramine
- 0,3 ml d'une solution tampon à pH = 7,4
- Eventuellement une substance inhibitrice de la MAO à tester et on complète à 3 ml avec de l'eau distillée.

On mesure l'absorption initiale à 360 m μ puis de nouveau après 20 minutes d'incubation à 37° (WEISSBACH et coll. opéraient à 30° environ en plaçant la cuve dans l'appareil) ; on en déduit la quantité de cynuramine disparue.

Si le tissu examiné est le coeur, TIMSIT pratique l'incubation à 45° pendant 1/2 heure à 1 heure pour rendre le dosage plus sensible.

Nous avons amélioré et sensibilisé la méthode en y apportant les deux modifications suivantes :

1° Emploi d'un homogénat total de tissu, sans clarification partielle par centrifugation et filtration.

2° Incubation suivie d'une défécation à l'hydrate de zinc
 $(\text{SO}_4\text{Zn} + \text{NaOH})$

En effet, dans son ensemble la méthode est fort simple, cependant l'utilisation d'un homogénat trouble pour le dosage, une centrifugation variable suivant les auteurs (500 ou 1000 t/mn) nous sont apparues peu satisfaisantes (WEISSBACH et coll. ne disent-ils pas que les lectures peuvent être faussées pendant les premières minutes par des particules).

L'emploi d'un homogénat total de tissu rendait évidemment toute lecture directe impossible. Celle-ci le devenait si, après incubation, le liquide était clarifié.

Pour permettre une lecture correcte finale, nous avons essayé une défécation acide (ClO_4H), mais elle ne convenait pas. Au contraire, la défécation à l'hydrate de zinc est satisfaisante. Nous avons vérifié que les spectres de la cynuramine et de la 4 HOQ ne sont pas modifiés, qu'il n'y a donc pas de pertes par adsorption.

Nous pouvons alors utiliser un homogénat total tissulaire qui garantit la fidélité des résultats parce qu'il met en oeuvre toute l'enzyme contenue dans le tissu étudié.

La figure 13 montre que cette technique met en évidence une perte d'activité lorsqu'on utilise le protocole habituel, en particulier dans le coeur.

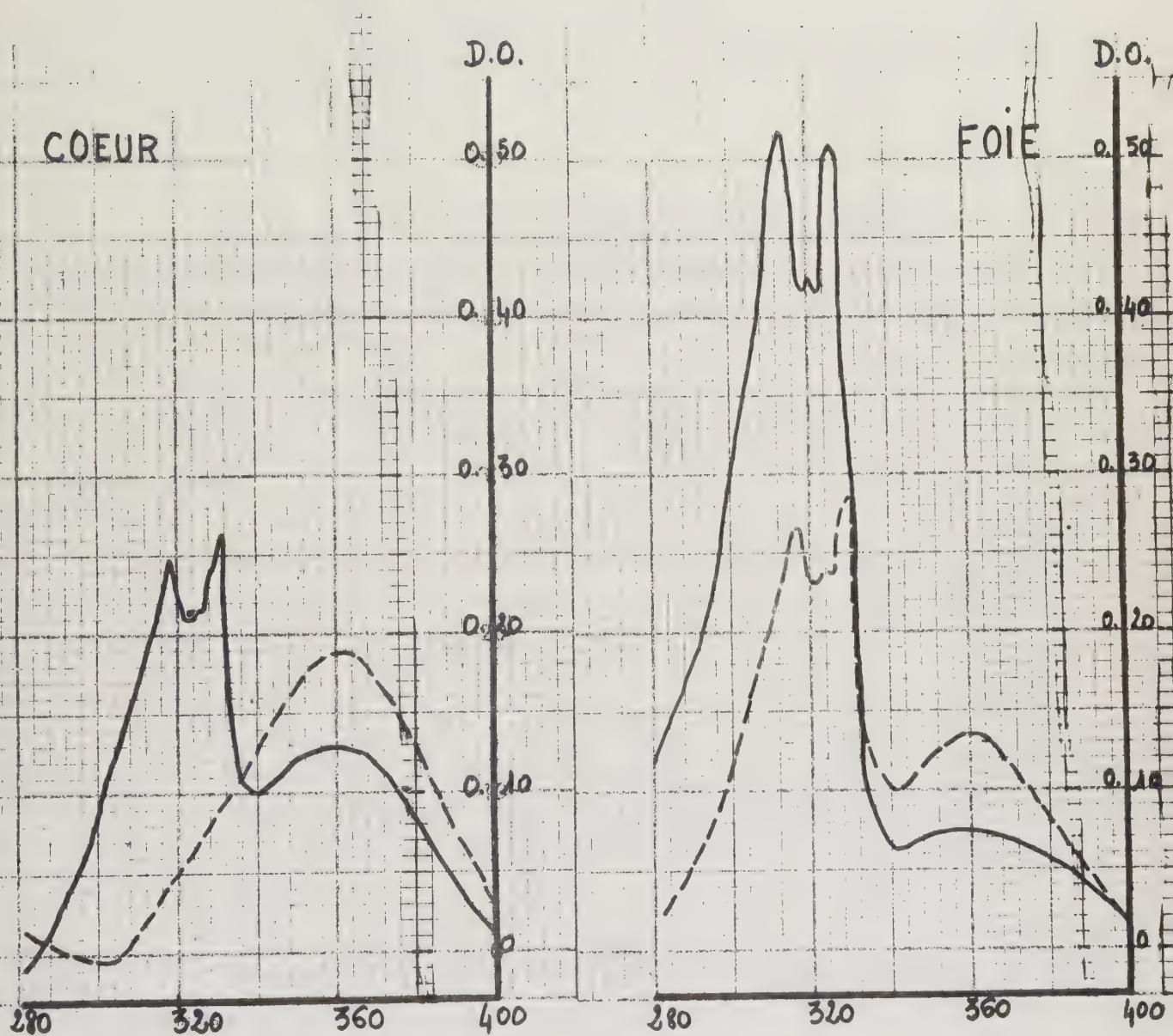


FIGURE 13 : Activité MAO du cœur et du foie de Rat suivant la technique utilisée

- homogénat total et défécation à l'hydrate de Zn
- - - - - homogénat centrifugé

Le volume total réactionnel a été réalisé aussi proche que possible de celui qui était préconisé (3,05 au lieu de 3 ml). Les lectures spectrales sont donc comparables à celles qu'ont obtenues ceux qui ont utilisé cette même méthode.

La lecture en double faisceau au spectrophotomètre nous a indiqué le volume maximum d'homogénat à ne pas dépasser pour obtenir une extinction parfaite sur tout le spectre quand on place côte à côte deux cuves renfermant le filtrat de centrifugation obtenu dans un essai à blanc ne contenant pas de réactif. La figure 14 montre les absorptions spectrales apparaissant dès que les volumes d'homogénats utilisés dans la réaction atteignent une certaine valeur.

Bien que cette éventuelle absorption parasite ne fausse pas les absorptions spectrales de cynuramine et de 4 H₂O₂ à leur maximum, nous ne nous sommes jamais placé dans ces conditions.

Pour choisir le temps d'incubation, nous avons suivi le développement de l'action enzymatique dans divers tissus de Rat : cerveau, foie, coeur, intestin, en faisant varier le temps d'incubation au bain-marie à 37° de 10 à 50 mn.

Quel que soit le temps l'action enzymatique est rapide et importante pour tous les tissus sauf le coeur (Figure 15).

Afin d'opérer dans des conditions identiques dans tous les essais, et obtenir une sensibilité suffisante pour le coeur, nous avons adopté un temps d'incubation de 30 mn.

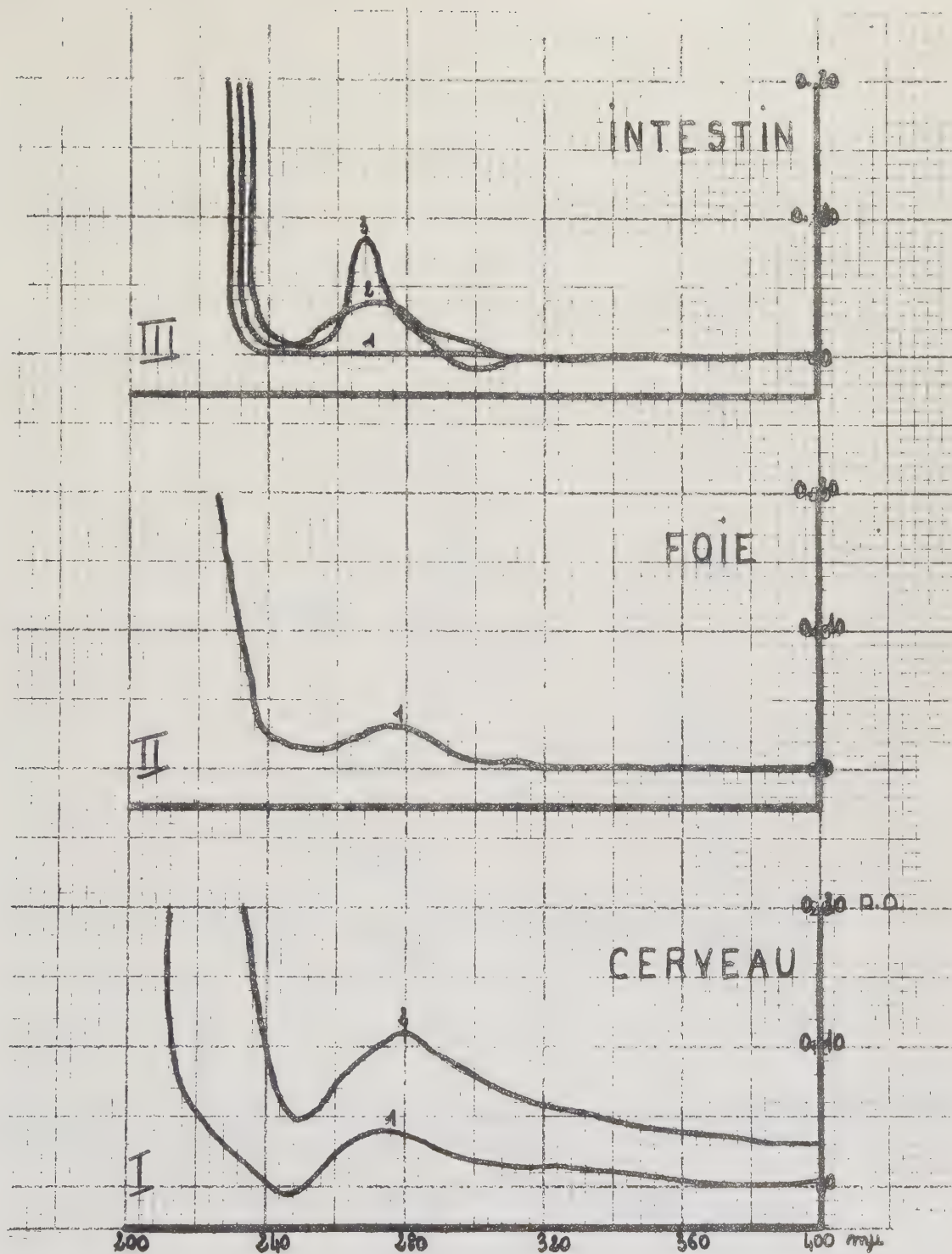


FIGURE 14 : Absorptions spectrales d'homogénats tissulaires de Rat en fonction du volume utilisé

I : 0,5 (1) et 0,6 (2) ml

II : 0,2 (1) ml

III : 0,5 (1) 0,75 (2) et 1 (3) ml

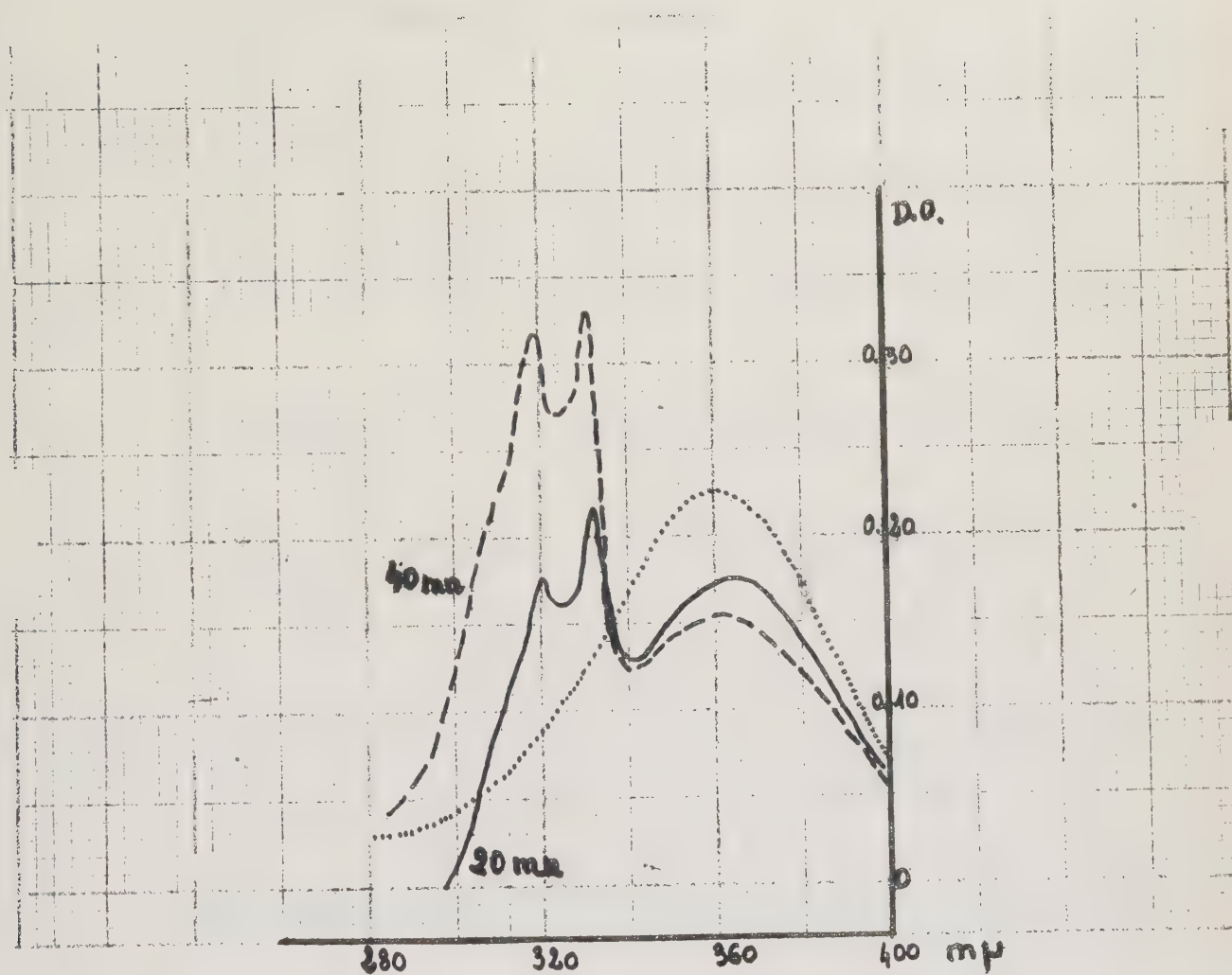


FIGURE 15 : Transformation de la kynuramine par la monoamine oxydase du cœur de Rat en fonction du temps d'incubation

- spectre de la kynuramine
- spectre après incubation de 20 mn
- spectre après incubation de 40 mn

Expression des résultats

Gammes d'étalonnage

Nous les avons établies en utilisant 0,1 à 1 ml de chacune des solutions équimoléculaires (0,15 μ mole/ml) de cynuramine et de 4-hydroxy-quinoline.

Cynuramine (kynuramine dihydrobromure, SIGMA chem. C°)

Le produit est conservé à -10° .

On prépare une solution mère à 24,25 mg/50 ml qui est mise à la glacière ($+ 4^{\circ}$).

Sa dilution extemporanée à 1/10 au moment de chaque série de dosages, réalise la concentration indiquée dans la méthode : 0,15 μ mole/ml en utilisant 1 ml de cette dilution pour 3,05 ml au total.

4-Hydroxyquinoline (4 HOQ) (4-Hydroxychinolin-Trihydrat FLUKA G)

On prépare une solution équimoléculaire à la solution de cynuramine, c'est-à-dire contenant 30 mg/50 ml, le poids moléculaire de la 4 HOQ étant : 199,2 g.

Lectures spectrales

Les lectures sont faites sur les spectres représentés dans les figures 9, 10 et 11. C'est-à-dire à 360 $m\mu$ pour la cynuramine (figure 16), à 315 et 329 $m\mu$ pour la 4 HOQ (figure 17 et figure 18). Si on se place dans les conditions du dosage de l'activité enzymatique, où se trouvent en présence la cynuramine non transformée et la 4 HOQ formée, la lecture aux pics 315 et 329 est faite sur le spectre de la figure 11.

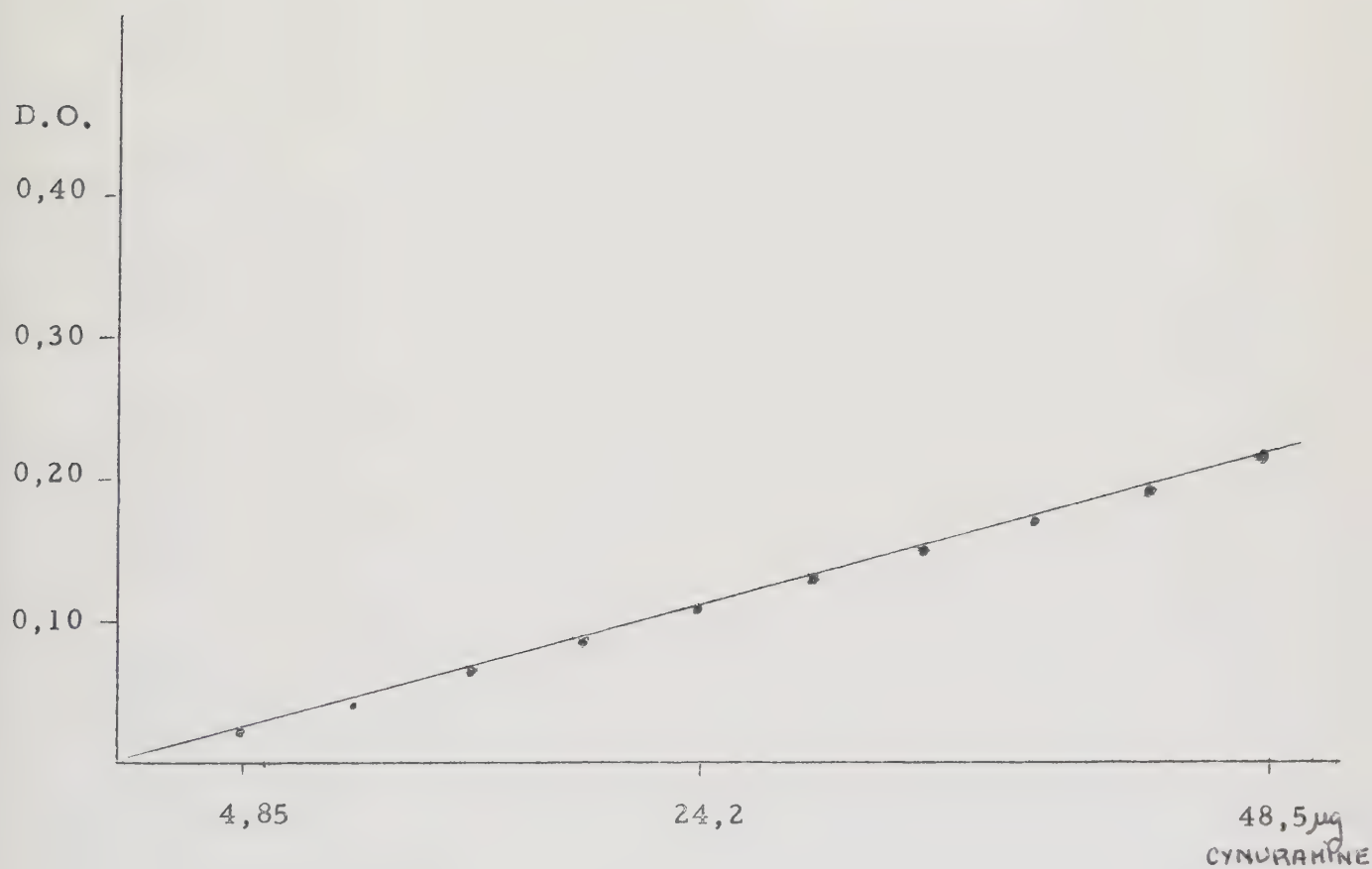


FIGURE 16 : Gamme d'étalonnage

D.O. à 360 m μ en fonction des quantités de cynuramine

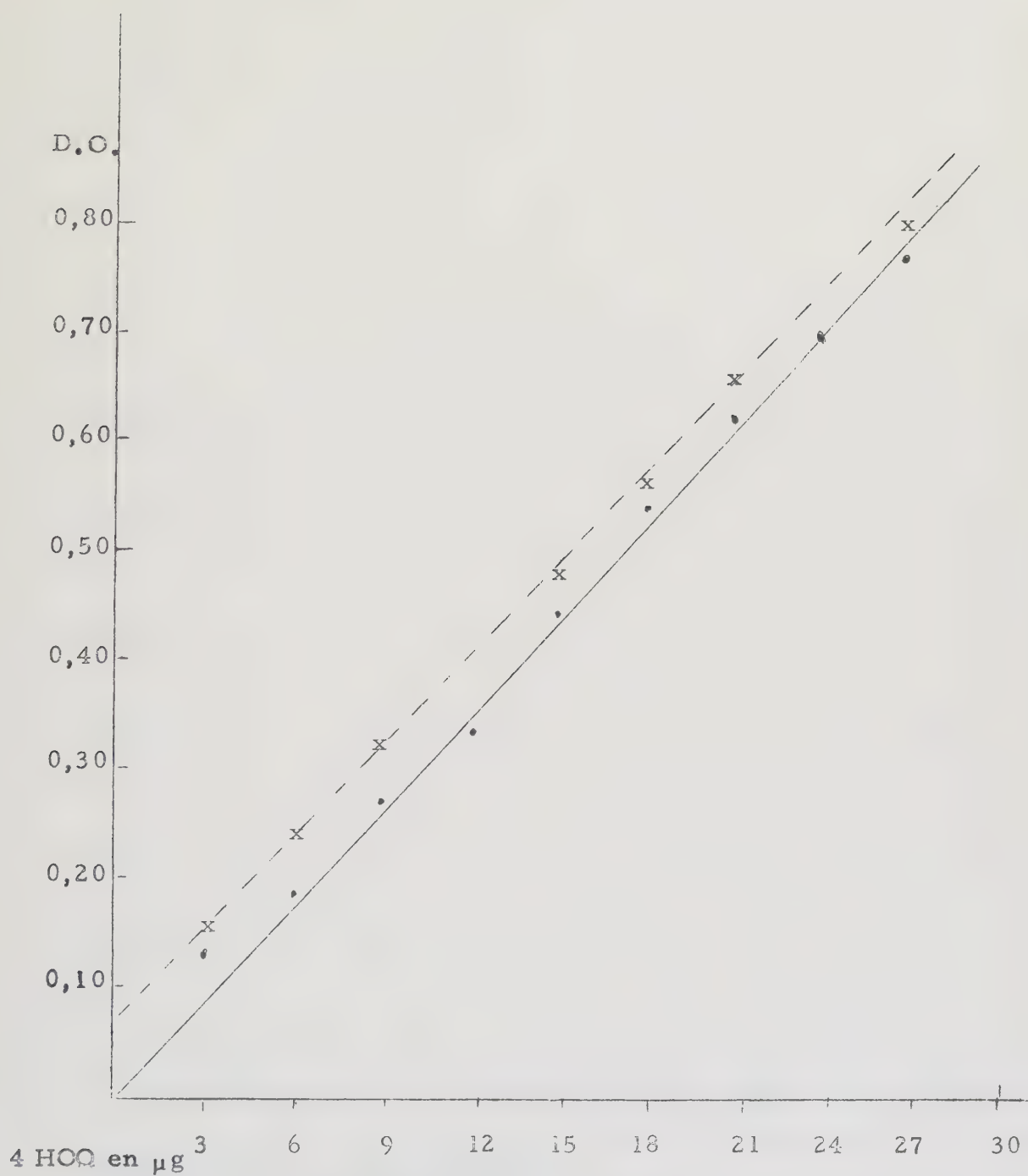


FIGURE 17 : Gamme d'étalonnage

D.O. au pic à 315 m μ en fonction de la quantité de 4 HOQ
 — sur solution pure (Fig. 10)
 ----- en présence de la quantité de cynuramine non transformée (Fig. 11)

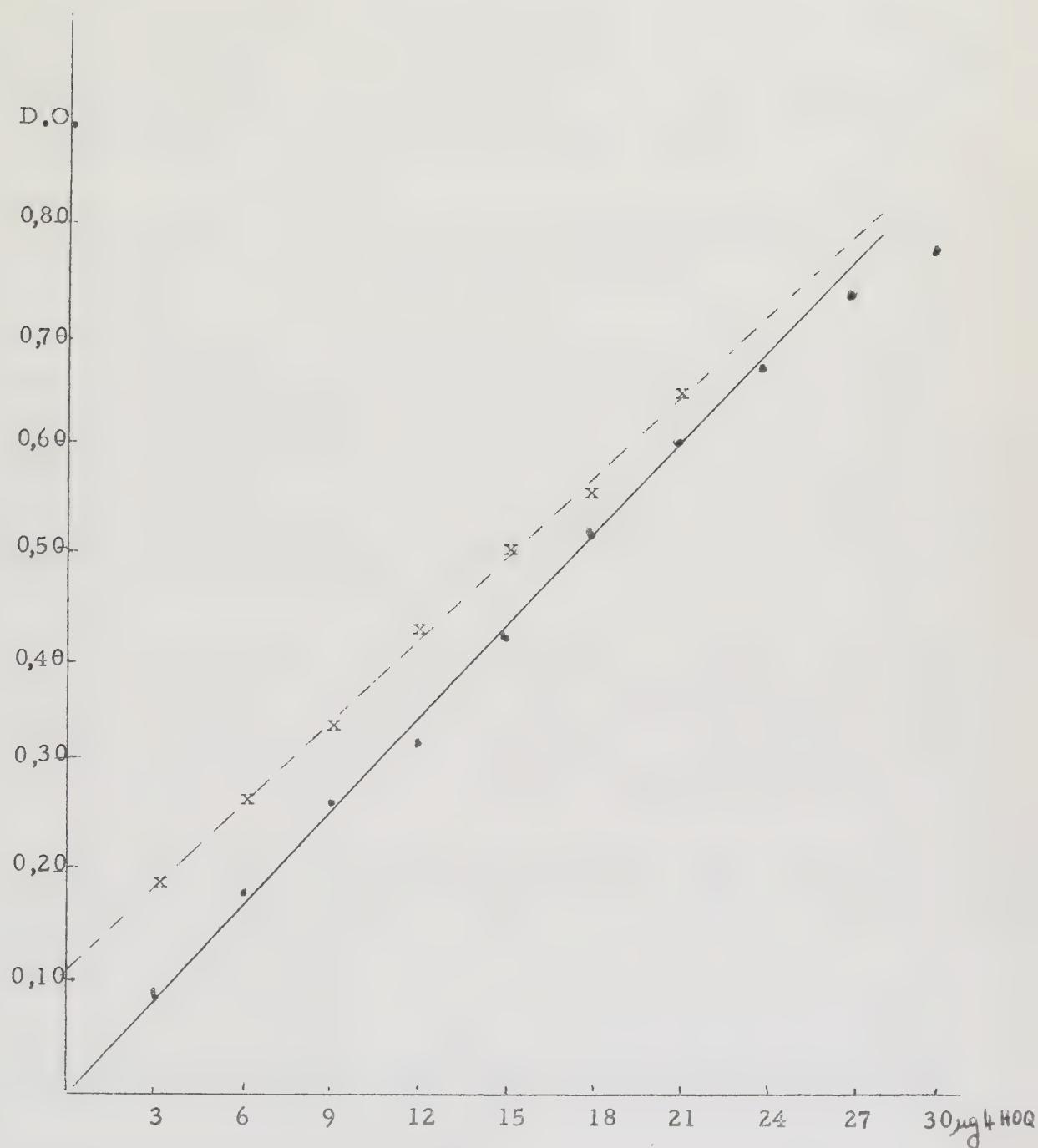


FIGURE 18 : Gamme d'étalonnage

D.O. au pic à 329 $m\mu$ en fonction de la quantité de 4 HOQ

- sur solution pure (Fig. 10)
- en présence de la quantité de cynuramine non transformée (Fig. 11)

Il ressort de l'examen des spectres (fig. 9, 10, 11) et des lectures spectrales (fig. 16, 17, 18), que l'activité enzymatique sera appréciée plus facilement et avec plus de sensibilité si on considère la quantité de 4 HOQ apparue plutôt que la quantité de cynuramine disparue.

On se rend compte, d'autre part, de la surélévation des pics caractéristiques de la 4 HOQ en présence de cynuramine.

Nous avons d'abord choisi comme indicatifs de l'activité MAO la mesure de la D.O. au niveau du pic à 329 m μ qui apparaît le premier. Mais il s'est présenté plusieurs fois, au cours de nos expériences, un incident se traduisant par une surélévation de tout le spectre. Dans ces cas, évidemment, les lectures sont faussées et il faut faire des corrections plus ou moins exactes, puisqu'il faut prendre comme repère la modification apportée au spectre de cynuramine.

C'est pourquoi, nous avons pensé que la différence de D.O. entre le minimum à 340 m μ et le maximum à 329 m μ devait constituer une mesure plus satisfaisante. Elle n'était pas modifiée par un déplacement accidentel concernant le spectre entier, elle était repérable avec précision.

La figure 19 représente les différences d'absorptions spectrales ainsi obtenues dans le mélange en proportions inverses de solutions équimoléculaires de cynuramine et de 4 HOQ.

La figure 20 montre l'application de cette mesure (qui traduit la quantité de 4 HOQ apparue) concurremment au relevé de l'absorption spectrale à 360 m μ due à la cynuramine.

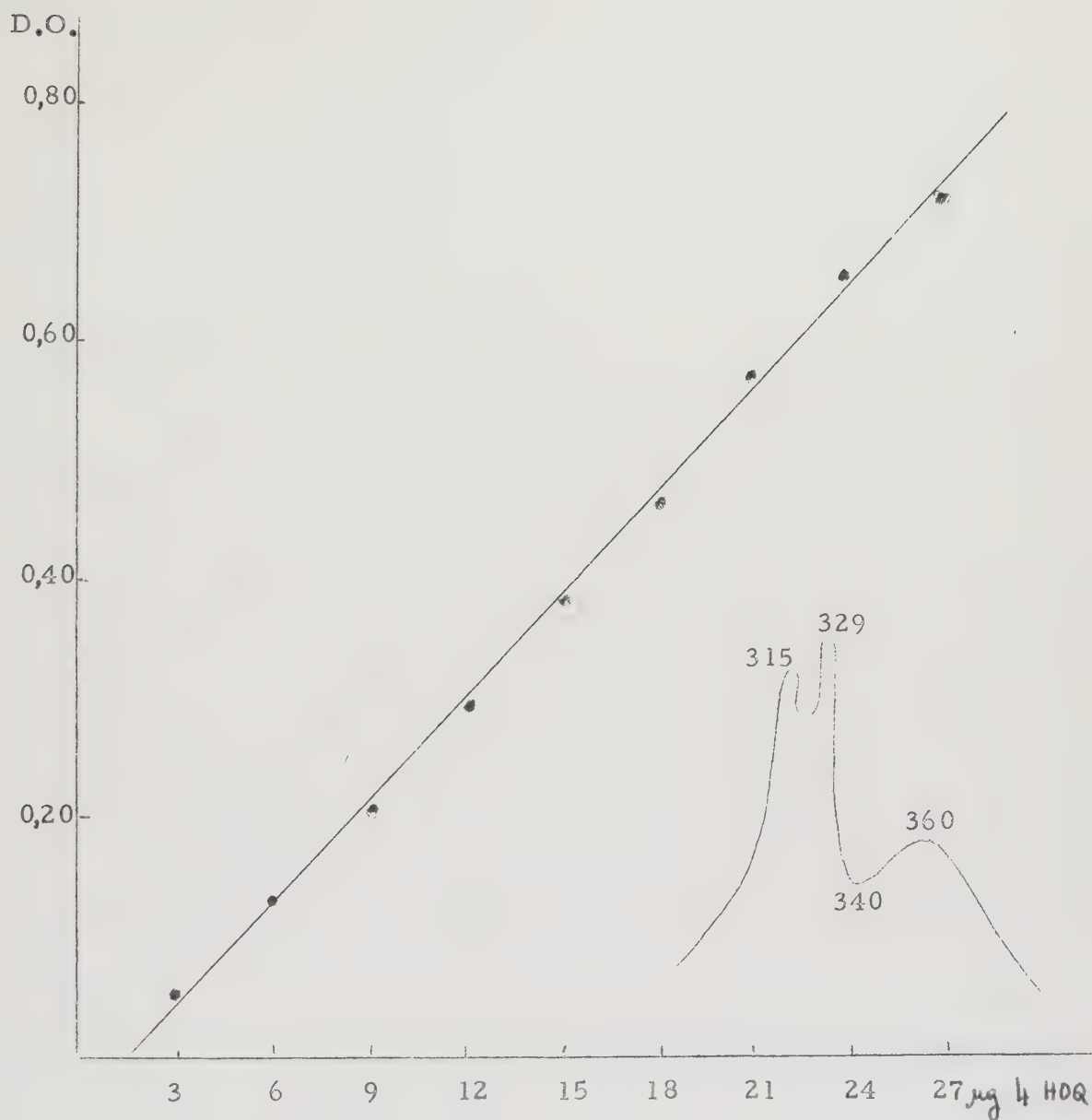


FIGURE 19 : Gamme d'étalonnage

Différences de D.O. à 329 et 340 m μ dans le mélange 4 HOQ formée + cynuramine non transformée (Fig. 11)

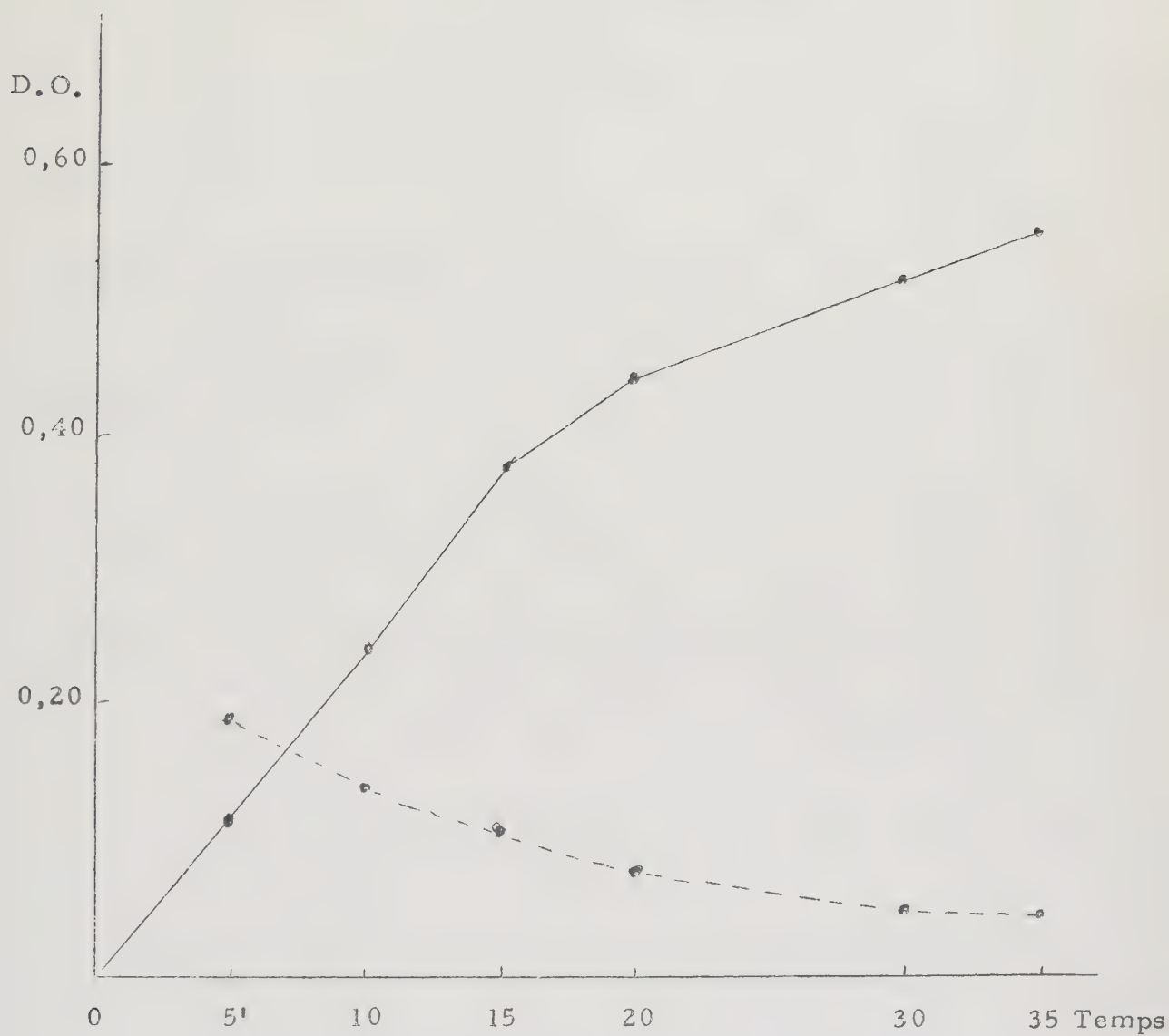


FIGURE 20 : Transformation de la cynuramine par la monoamine oxydase du cerveau de Rat en fonction du temps d'incubation (5 à 35 mn)

----- D.O. à 360 mμ (cynuramine)

— Différences de D.O. entre 329 et 340 m μ
(4 HOQ)

TECHNIQUE PROPOSEE POUR LE DOSAGE DE L'ACTIVITE
MAO DANS LES TISSUS

1) Préparation des homogénats tissulaires

Nous avons fait des dosages chez le Rat, la Souris, le Lapin, le Cobaye.

Les animaux sont sacrifiés par section des carotides, les organes prélevés immédiatement (coeur, cerveau, foie, intestin grêle en totalité, sauf le foie et l'intestin chez le Lapin), et placés si nécessaire à la glacière pendant les quelques minutes précédant le broyage. L'intestin est lavé par perfusion à la seringue, essuyé et séché entre papier filtre. Le coeur est débarassé du sang par pression dans de l'eau et essoré.

Les organes sont alors pesés puis homogénéisés dans 10 parties d'eau froide à l'aide de l'appareil POLYTRON.

Les homogénats sont mis en oeuvre dès leur obtention. Celui du foie est dilué à 1/10.

Volumes d'homogénats utilisés au cours de nos expériences :

Cerveau	0,2 et 0,4 ml
Coeur	0,25 et 0,5 ml
Intestin	0,5 ml
Foie 1/10	0,5 et 1 ml

Temps d'incubation au bain-marie à 37° : 30 mn.

4) Lectures spectrophotométriques

Dans l'exemple indiqué, les lectures se font 5 contre 6
1 contre 3
2 contre 4

L'appareil utilisé est le spectrophotomètre BECKMAN D.U. avec inscription automatique sur papier de 27 cm de largeur.

Pratiquement chaque intervalle de 0,10 mesure 25 mm, chaque division du papier correspond à une D. O. = 0,01 soit 1 mm = 0,004 D. O.

Dans ces conditions, par commodité, nous avons apprécié la différence de D.O. entre 329 et 340 m μ par la mesure de cet écart en mm. C'est pourquoi, nous avons fait figurer cette mesure dans le tableau des correspondances (Tableau 2).

5) Expression des résultats

Nous avons exprimé l'activité enzymatique par le nombre de μ moles de 4-hydroxyquinoline formées par gramme de tissu pendant 1 heure, pour lui donner une expression internationale.

Nous avons donc déduit cette expression des résultats obtenus sur 10 à 50 mg de tissus pendant un temps d'incubation de 30 mn.

Tableau 2

MESURE DE L'ACTIVITE DE LA MAO

Tableau des Correspondances

DIFFERENCE D.O. 329 - D.O. 340		μ moles 4FOQ apparue CYNURAMINE transformée	% CYNURAMINE transformée
en D.O.	en mm		
0,044	11	0,015	10
0,088	22	0,022	15
0,132	33	0,030	20
0,172	43	0,037	25
0,208	52	0,045	30
0,252	63	0,052	35
0,286	74	0,060	40
0,340	85	0,067	45
0,380 $\frac{1}{4}$	95	0,075	50
0,420	105	0,082	55
0,464	116	0,090	60
0,508	127	0,097	65
0,564	141	0,105	70
0,612	153	0,112	75
0,656	164	0,120	80
0,692	173	0,127	85
0,728	182	0,135	90
0,764	191	0,142	95

EXPERIMENTATION

INHIBITEURS CHOISIS

Nous avons utilisé dans nos expériences deux inhibiteurs que nous avons choisis en raison des particularités de chacun, l'iproniazide et la tranylcypromine. (*).

a) Toutes deux sont classées parmi les IMAO dits irréversibles, mais leurs différences structurales laissent pressentir que le processus d'inhibition n'est pas le même. L'iproniazide (IIH) est une hydrazide, tandis que la tranylcypromine (SKF trans 385 - PCP) a une structure qui l'apparente à l'amphétamine.

La liaison à la MAO est plus faible pour la PCP que pour l'IIH.

En effet, le blocage enzymatique par l'IIH ne peut être levé par dialyse, tandis qu'il l'est partiellement dans le cas de la PCP (TEDESCHI et coll. 1959). La PCP peut également être déplacée par des substrats (partiellement par la tryptamine, totalement par 5 HT) (COUTEAUX et coll. 1965 - GUHA, 1966).

D'autre part MAO reste inhibée plus longtemps après l'IIH qu'après la PCP (SARKAR et coll. 1960).

b) La PCP est beaucoup plus active que IIH vis-à-vis de l'enzyme cérébrale. Chez le Rat, les doses amenant 50 % d'inhibition sont dans le rapport 1/25 (GREEN et ERICKSON, 1962). Par contre, dans le foie PCP a une activité plus faible que IIH in vivo, et sensiblement égale in vitro (MAITRE, 1967).

(*) Nous remercions les Laboratoires ROCHE et les Laboratoires THERAPLIX qui nous ont gracieusement fourni l'Iproniazide et la Tranylcypromine.

Il y a à cela deux raisons : la PCP, dont la formule se rapproche de substrats naturels et peut être grâce à son noyau phényle, pénétrer plus vite, quoique les deux drogues atteignent rapidement un taux élevé.

La seconde raison est la transformation de l'IIH en des métabolites volatils plus actifs, ce qui explique d'ailleurs que IIH soit plus actif in vivo que in vitro. Il s'agit d'un phénomène non enzymatique, exigeant de l'oxygène et renforcé par le CNK d'où la nécessité d'une préincubation dans les essais in vitro (Fig. 21).

Au contraire, la PCP est peu métabolisée. En effet, 12 % seulement sont éliminés sous forme d'acide hippurique (ce qui prouve d'ailleurs que le cycle cyclopropyle a été ouvert), et 90 % ne sont pas transformés (ALLEVA, 1963).

Une préincubation est cependant nécessaire pour obtenir une inhibition enzymatique in vitro qui soit d'une certaine intensité, mais la présence d'oxygène n'est pas indispensable comme dans le cas de IIH (GUHA, 1966).

c) L'activité IMAO de chacun de ces inhibiteurs varie suivant l'organe, et suivant l'espèce.

Voici, relevées dans la littérature, deux séries de résultats obtenus par des méthodes différentes.

L'effet IMAO apprécié par la dose de IIH ou de PCP provoquant en 16 h. une diminution de 50 % du taux de sérotonine cérébrale se place dans l'ordre d'intensité décroissante :

pour IIH : Cobaye - Rat - Souris (GÖSCHKE, 1961).
pour PCP : Rat - Souris - Cobaye

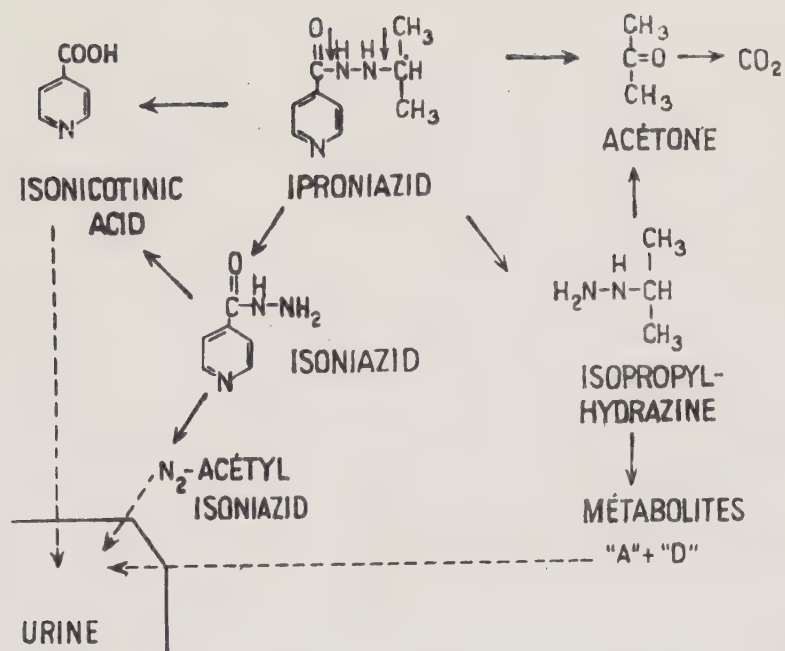


FIGURE 21 : Schéma du catabolisme de l'iproniazide
(d'après TIMSIT, 1965 (b))

L'effet IMAO apprécié par la dose de IIH ou de PCP provoquant in vivo chez le Rat en 16 h., ou in vitro, une inhibition de 50 % de l'activité MAO cérébrale mesurée vis-à-vis de la sérotonine comme substrat, se place dans l'ordre d'intensité décroissante :

Pour IIH : Foie - cerveau - coeur (in vivo)
Foie - coeur - cerveau (in vitro)

Pour PCP : Cerveau - coeur - foie (in vivo)
Coeur - cerveau - foie (in vitro)

(MAITRE, 1967).

EXPERIMENTATION SUR LE RAT

Nous avons utilisé des Rats provenant d'un même élevage. L'administration des drogues est faite par voie intrapéritonéale avec un volume de 1 ml par 100 g d'animal. Le Rat est assommé, saigné, les organes sont prélevés immédiatement et traités aussitôt (Tableau 3).

Taux tissulaire de MAO

Nous avons déterminé l'activité enzymatique dans le cerveau, le coeur, le foie, l'intestin grêle.

Etant donnée la particularité concernant le coeur de Rat qui s'enrichit en activité MAO en fonction de l'âge, nous avons apprécié cette activité enzymatique chez des Rats de différents poids.

Enfin, le hasard nous ayant fourni des portées de Rats noirs provenant de femelles albinos, il nous a paru intéressant de comparer les activités enzymatiques.

Les résultats obtenus dans ces différentes expériences sont rapportés dans le tableau suivant (Tableau 4) :

Tableau 3

POIDS DES ORGANES DE RAT EN GRAMMES

Poids total	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin grêle
25+25+25	3,77	0,40	2,28	
24+26+28	3,32	0,47	3,58	
70+75	2,94	0,85	6,53	2,14
130	1,80	0,60	4,5	0,92
135	1,44	0,53	3,80	0,64
140	1,64	0,5	6	0,68
140	1,66	0,68	4,75	0,8
160	1,50	0,52	5,10	0,48
160	1,80	0,57	5,83	
180	1,64	0,61	7,61	
185	1,62	0,71	6,79	
220	1,69	0,77	8,03	1,68
230	1,70	0,68	7,2	1,28
230	1,70	0,73	8,08	0,57
240	1,80	0,97	8,9	0,62
240	1,79	0,83		1,37
250	1,34	0,94	6,70	1,64
255	1,63	0,77	8,93	0,77
260	1,85	0,85	8,08	1,36
260	1,87	0,79	8,57	1,52
266	1,70	0,68	8,18	1,38
280	1,67	0,92	9,18	0,73
290	1,65	0,92	9,5	0,68
455		1,18	10,18	
475	2,07	1,24	12,44	1,86
492	2,14	1,44	11,66	2,7

Tableau 4Activité MAO tissulaire chez le rat

Poids de l'animal	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin grêle
<u>RATS BLANCS</u>				
25 g (3)	4,70	0,52	21	
25-29-30 (3)	4,30	0,48	20,2	
160	5,2	2,12	18,2	3
220	5		21,2	2,4
250	5,2	2,84	22	
492	4,8	4,04	21,6	2,28
<u>RATS NOIRS</u>				
29-30-32 (3)	3,2	0,06	17,4	
165	2,8	0,92	16,4	

L'existence d'un taux fixe dans chaque tissu apparaît nettement à la lecture des chiffres concernant le cerveau, le foie et l'intestin. Ceci a l'avantage appréciable de dispenser d'un contrôle répété sur des animaux témoins.

Il n'en est pas de même en ce qui concerne l'activité MAO du coeur, dont nous avons signalé la particularité de croître avec le poids de l'animal. La Fig. 21 en est une illustration.

Rats Noirs

L'activité MAO de Rats adultes et jeunes figure dans le Tableau 5 et la Fig. 21.

L'activité MAO est beaucoup plus faible que chez le Rat blanc dans le coeur ($1/3$) et dans le cerveau ($1/2$). Elle est également inférieure dans le foie.

La comparaison des jeunes et de l'adulte montre, comme chez le Rat blanc, un taux constant d'enzyme cérébral et hépatique, et la grande différence concernant le coeur. Ici il n'y a même chez les jeunes Rats que des traces d'activité MAO.

	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin
Rat adulte : 165 g	2,8	0,92	16,4	1,52
Jeunes Rats de 30 g	3,2	0,06	18	

Tableau 5
Activité MAO chez le Rat noir

RATS NOIRS

RATS BLANCS

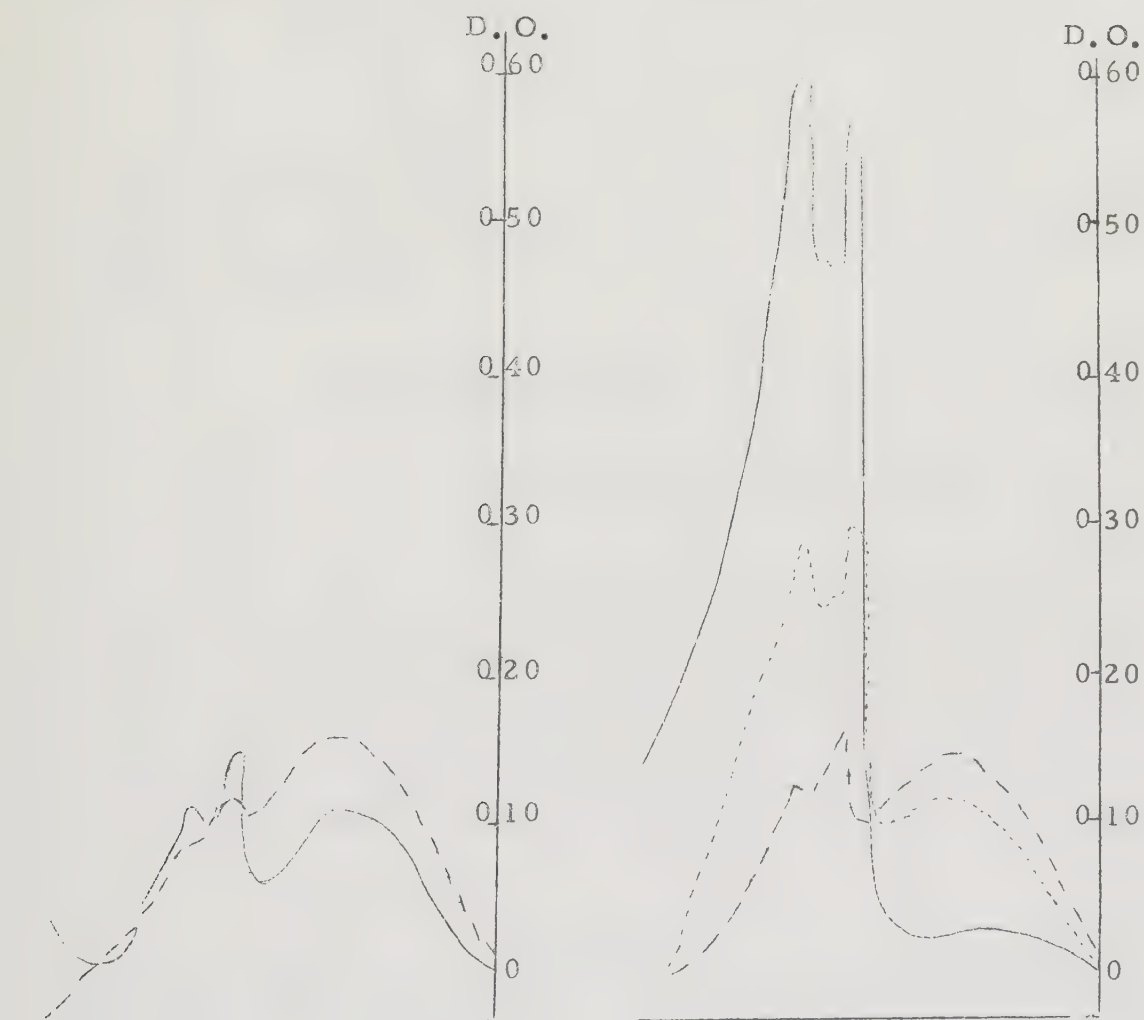


FIGURE 21 : Activité MAC du cœur chez des Rats blancs et des Rats noirs, jeunes et adultes.

Rats noirs

Rats blancs

—— 165 g
 ---- 30 g

—— 492 g
 ---- 30 g
 220 g

Effets IMAO de l'iproniazide et de la tranylcypromine

1) Activité IMAO de l'iproniazide (IIH) in vivo

Nous avons utilisé l'iproniazide à 3 doses : 10,50 et 100 mg/kg dans le but d'apprécier l'inhibition enzymatique des organes examinés d'une part, et d'autre part de suivre la reprise d'activité de l'enzyme après son inhibition.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau 6.

a) Efficacité suivant l'organe

L'effet inhibiteur de IIH à la dose de 10 mg/kg se manifeste dès les premières 30 mn : il est presque total dans le foie, apparent pour le cerveau et le coeur, mais encore nul dans l'intestin. Cependant l'inhibition atteindra 96,6 % dans cet organe après 5 h., tandis qu'elle sera respectivement de 100 et 64,3 % dans le foie et le coeur. Dans le cerveau l'inhibition atteindra son maximum, 80 %, en 6 h. (Fig. 22).

L'administration de 50 mg/kg d'IIH se traduit par une inhibition totale dans le cerveau, le foie et l'intestin, tandis que dans le coeur l'inhibition progresse plus lentement, elle est trouvée égale à celle des autres tissus à l'examen après 30 h.

La dose de 100 mg/kg produit une inhibition qui est encore totale après 26 h.

Tableau 6

Pourcentage d'inhibition de MAO
après administration d'iproniazide

Dose	Temps	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin
10 mg	30 mn	8	8,5	98,1	0
-	60 -	8	14,3	100	23,3
-	2 h	28	11,4	100	46,6
-	3 -	40	38,5	100	83,3
-	5 -	68	64,3	100	96,6
-	6 -	80	43	100	95
-	8 -	80	20	100	93
50 mg	6 h	100	78,5	100	100
-	30 -	96,75	97,1	96,7	95
-	78 -	84	74,3	72,2	66,6
-	8 j	64	75,7	58,3	61,6
100 mg	26 h	100	100	100	100
-	45 -	70	94,3	86,1	99,5
-	4 j	76	78,5	69,4	53,3
-	8 -	64	64,3	63,8	46,6
-	15 -	48	24,3		8,3
-	19 -	30	35,7	33,3	+ 8,3
-	34 -	12	+ 35,7	6,5	+15
-	35 -	8	+ 21	11,1	
-	40 -	8	+ 44,4	12,9	
-	54 -	8	+ 45,8	1,8	+11,6

+ signifie activité supérieure à celle du témoin.

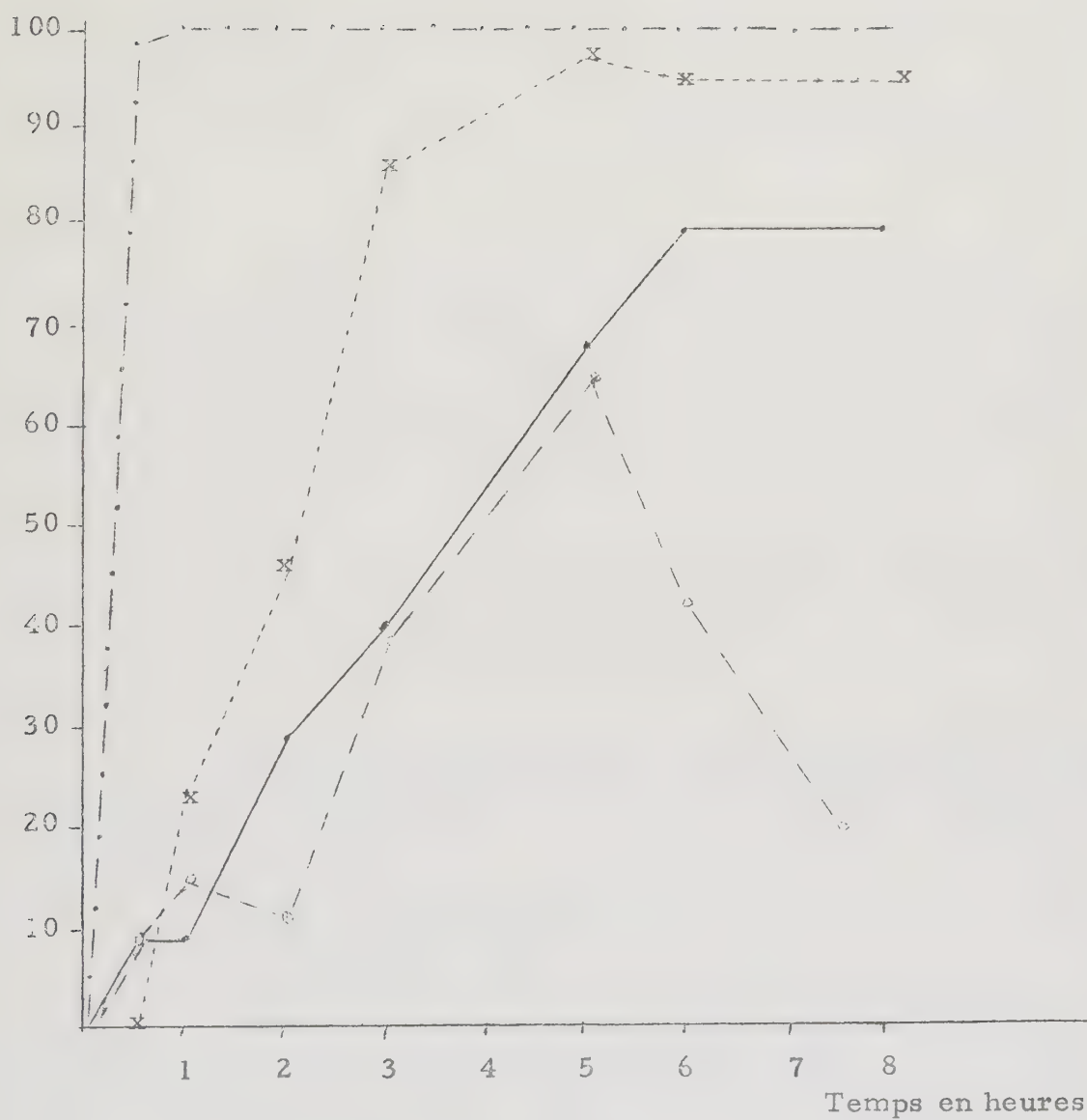


FIGURE 22 : Pourcentage d'inhibition de la MAO chez le Rat par l'iproniazide (10 mg/kg i.p.)

—•—•— Foie	———— Cerveau
..... Intestin	----- Cœur

b) Reprise d'activité de l'enzyme après inhibition

La levée de l'inhibition s'observe dans tous les tissus. Elle apparaît déjà dans le coeur 6 h après l'administration de 10 mg/kg (Fig. 22), elle est évidente dans tous les essais 78 h après l'administration de 50 mg/kg, et à l'examen fait 45 h après l'administration de 100 mg/kg.

Il est intéressant de constater, au niveau du coeur et de l'intestin, une activité enzymatique plus élevée que chez les témoins. Ceci évoque les problèmes de "régulation" et de contrôle nucléaire des taux d'enzymes ; la compensation déborde l'équilibre et montre une "activation" avant de revenir à la normale.

Sans doute, les chiffres qui concernent la MAO du coeur peuvent être faussés par excès, n'ayant pas au moment de ces expériences utilisé des Rats exactement de même poids.

Cependant cette observation vient confirmer celle que WITT et coll. (1961) ont faite chez le Lapin, dont la MAO hépatique avait été inhibée par l'iproniazide.

c) Effets chez le jeune Rat

Trois rats pesant 24, 26 et 28 g ont reçu une dose de 10 mg/kg d'IIH, et ont été sacrifiés 6 h. plus tard.

L'inhibition de MAO est :

dans le cerveau :	42 %
dans le coeur :	95 %
dans le foie :	100 %

On constate que l'enzyme du cerveau est beaucoup moins inhibée que chez l'adulte, au contraire celle du coeur l'est très fortement,;

peut-être en raison de son faible taux. KULKARNI et SHIDEMAN (1968) ont trouvé une augmentation plus marquée des catécholamines chez l'adulte après administration d'un IMAO, la β -phényl-isopropyl-hydrazine (JB 516).

2) Activité IMAO de la tranylcypromine (PCP) in vivo

Nous avons utilisé trois doses : 0,5 mg - 1 mg - 5 mg/kg, la plus élevée étant celle qu'on emploie habituellement quand on étudie l'action de la PCP sur les amines biogènes.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 7

Pourcentage d'inhibition de MAO par la tranylcypromine

Doses	Temps	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin
0,5 mg	30 mn	52	73	68,5	71,6
1 mg	30 mn	83,6	60	100	95
	1 h	99,2	100	100	100
5 mg	1 h	100	100	100	100

L'inhibition de MAO est totale 1 h après administration de 1 ou 5 mg/kg. Elle est curieusement moins importante dans le cerveau que dans le coeur 30 mn après une dose de 0,5 mg, elle est plus importante 30 mn après une dose de 1 mg.

Il apparaît qu'avec la plus faible dose, 0,5 mg, c'est l'enzyme cérébrale qui est la moins atteinte.

3) Activité IMAO de l'iproniazide et de la tranylcypromine in vitro

Nous avons cherché l'activité de l'iproniazide et de la tranylcypromine in vitro sur un homogénat de cerveau, de foie et de coeur.

L'inhibiteur a été apporté sous un volume constant de 0,1 ml par ml d'homogénat. Le tout a été placé au bain-marie à 37° pendant 30 mn. Cette période d'incubation est indispensable lorsque l'inhibiteur est l'iproniazide dont l'activité dépend de sa décomposition en métabolites.

Nous avons choisi 30 mn pour nous placer dans les conditions minima de temps d'action in vivo.

L'homogénat seul, dont le taux de MAO servira de témoin est placé au bain-marie dans les mêmes conditions. Nous avons en effet constaté que l'attente de 30 mn, à température ordinaire, était une source éventuelle d'erreur par diminution d'activité MAO.

Au cours de ces essais, nous avons remarqué une précipitation de l'homogénat dans les tubes contenant l'iproniazide. Ce qui pourrait indiquer une fixation de cette substance sur les protéines.

Les résultats obtenus figurent dans le Tableau 8.

L'intensité d'inhibition par l'iproniazide se classe dans l'ordre tissulaire décroissant : foie - cerveau - coeur, tandis que par la tranylcypromine, l'ordre est coeur - cerveau - foie.

On retrouve donc, comme dans les essais in vivo, la plus grande sensibilité du foie vis-à-vis de l'iproniazide, mais apparaît ici une plus grande sensibilité du coeur vis-à-vis de la tranylcypromine.

Tableau 8

Pourcentage d'inhibition de MAO in vitro
par l'iproniazide et la tranylcypromine

Concentration d'inhibiteurs	Cerveau	Coeur	Foie
IPRONIAZIDE			
$5 \cdot 10^{-5}$	38	0	100
$1 \cdot 10^{-4}$	100	100	-
TRANLYCYPROMINE			
$2 \cdot 10^{-7}$	26	-	0
$4 \cdot 10^{-6}$	-	50	-
$4 \cdot 10^{-5}$	71	100	66

Essai de la réserpine

Nous avons pensé à étudier l'influence éventuelle de la réserpine en raison des toutes récentes observations publiées par YODIM et SANDLER (1968).

L'administration de réserpine au Rat, à la dose de 5 mg/kg entraîne après 5 h une augmentation d'activité MAO dans le coeur, le cerveau, le foie. Cette augmentation concerne davantage l'enzyme des microsomes que celle des mitochondries, ce qui expliquerait qu'elle soit plus importante dans le coeur où la proportion microsomique est plus grande.

Nous avons utilisé la réserpine à la dose de 3 mg/kg en injection i.p. Dans une première série d'expériences, la réserpine est administrée seule, et l'animal est sacrifié 15 h plus tard. Dans une seconde série d'expériences, la réserpine est administrée 18 h avant l'iproniazide (10 mg/kg), et l'animal est sacrifié 3 h après cette injection.

Tableau 9

Pourcentage d'inhibition de MAO par la réserpine et l'iproniazide

	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin
Iproniazide	40	38,5	100	83,3
Réserpine	16	55,5	0	+ 11,6
Réserpine + Iproniazide	44	71,4	100	56,6

+ signifie : activité enzymatique supérieure à celle du témoin

Ces résultats mettent en évidence deux faits qui nous paraissent intéressants :

- un effet inhibiteur important de la réserpine sur la MAO cardiaque.
- une addition des effets de la réserpine et de l'iproniazide.

Nous ne devons évidemment considérer que le sens, vers l'inhibition ou vers l'"activation", des modifications observées, et non leur valeur numérique exacte, les conditions n'étant pas identiques dans les deux cas.

Pour ne retenir que le coeur, nous remarquons que c'est dans cet organe que YOUDIM et SANDLER ont observé l'augmentation d'activité la plus importante ; il s'agit ici d'une inhibition. Nos résultats paraissent donc en contradiction avec ceux de ces auteurs. Elle n'est qu'apparente, nous semble-t-il, car l'augmentation d'activité a été observée 5 h après l'administration de réserpine, tandis que nos examens ont été faits après 15 h et 21 h.

On conçoit, d'ailleurs, qu'il puisse y avoir une augmentation d'activité enzymatique facilitant la disparition des stocks d'amines biogènes, puis une inhibition pour s'opposer à cette fuite d'amines.

Qu'il y ait une forte inhibition enzymatique dans le coeur, et que l'influence de la réserpine paraisse beaucoup plus faible dans le cerveau, pourrait-être rapproché du fait que la MAO joue un rôle prépondérant dans le catabolisme des catécholamines du coeur.

Ces données nouvelles sur l'action de la réserpine, si elles devaient être confirmées, apporteraient une information supplémentaire importante dans l'étude du mécanisme de l'action de cette drogue sur les amines biogènes et en conséquence dans le domaine cardiovasculaire.

Essai de la chlorpromazine

Un certain doute persiste quant à une intervention éventuelle de la chlorpromazine (Largactil, CPZ).

EHRINGER et coll. (1960) trouvent chez le Rat que la CPZ à forte dose (20 mg/kg) restreint respectivement de 80 à 50 p. 100 l'augmentation normale des taux de catécholamines et de sérotonine sous l'effet de l'iproniazide (IIH) ; mais l'activité IMAO n'est pas modifiée.

LA CPZ s'interpose aussi, partiellement, dans l'antagonisme IIH-résérpine.

La CPZ semble donc bien intervenir dans le processus de stockage des amines biogènes par les IMAO, mais n'influencerait pas l'inhibition enzymatique.

SCHWARTZ et coll. (1963) avaient supposé que la CPZ interférerait dans la pénétration des IMAO, comme elle le fait vis-à-vis des acides aminés précurseurs des amines, mais l'expérience n'a pas confirmé cette vue.

Chez la souris, BARTLET (1960) a observé une faible augmentation de 5 HT dans le cerveau après administration de 20 mg/kg de CPZ seul, tandis qu'il y a une légère inhibition de l'effet de l'iproniazide.

D'autre part, chez le Rat, la CPZ augmente légèrement le taux de dopamine (HOLZER et HORNYKIEWICZ, 1959).

Possédant une méthode simple et sûre de dosage de l'activité de la MAO, nous nous sommes demandé si nous ne trouverions pas d'action de

la chlorpromazine au niveau de cette enzyme, d'autant plus que USDIN et USDIN (1961) disent que la plupart des dérivés de la phénothiazine ont une action IMAO.

Nous avons utilisé la chlorpromazine à la dose de 5 mg/kg en injection i.p., dose qui permet de mettre en évidence très nettement ses propriétés neuroplégiques.

Dans une première expérience, nous avons administré la chlorpromazine seule, et sacrifié l'animal 1 h plus tard ; dans une seconde expérience le Rat a reçu successivement à 1 h d'intervalle la CPZ (5 mg/kg) et la tranylcypromine (0,5 mg/kg) ; il a été sacrifié 30 mn après la dernière injection pour nous placer dans les conditions du témoin ne recevant que de la tranylcypromine.

Tableau 10

Pourcentage d'inhibition de MAO par la chlorpromazine et la tranylcypromine

	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin
Tranylcypromine (PCP)	52	73	68,5	71,6
Chlorpromazine (CPZ)	12	34,3	3,7	20
Chlorpromazine) et) Tranylcypromine)	68	67,1	76,8	95

La CPZ exerce donc un effet inhibiteur enzymatique certain.

En présence de CPZ, l'inhibition par la PCP est de ce fait notablement augmentée dans le cerveau, le foie, l'intestin.

Dans le coeur, au contraire, aucun effet cumulatif n'apparaît. On peut se demander s'il n'y aurait pas ici un phénomène de concurrence entre CPZ et PCP vis-à-vis de la MAO.

EXPERIMENTATION SUR LA SOURIS

Nous avons utilisé des lots homogènes de Souris d'un poids variant de 20 à 25 g. Nous avons fait figurer dans le Tableau 12 le poids des organes, à titre de comparaison avec les données pondérales du Rat.

L'administration des drogues est faite par voie intrapéritonéale avec un volume de 0,2 ml par 20 g.

Taux tissulaire de MAO

Les résultats obtenus dans deux lots de 5 Souris chacun sont les suivants :

Tableau 11

Activité MAO tissulaire chez la Souris

	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin grêle
Lot 1	3,8	3,88	30,6	2,24
Lot 2	4,08	4,20	31,4	2,88

L'activité enzymatique est la même dans le cerveau et dans le coeur, elle est presque deux fois moins élevée dans l'intestin, et environ 7 fois plus dans le foie. La concordance des deux séries de l'expérience prouve, comme chez le Rat, la fixité du taux d'activité MAO.

Nous trouvons ici un exemple des différences importantes existant entre le Rat et la Souris. Si nous comparons ces résultats à ceux que nous avons obtenus chez le Rat, nous constatons une moindre richesse du cerveau, mais une plus grande du coeur et du foie.

Tableau 12

POIDS DES ORGANES DE SOURIS EN GRAMMES

PAR ANIMAL PESANT 20 A 25 grammes

Cerveau	Coeur	Foie	Intestin grêle
0,37	0,1	1,4	0,31
0,39	0,09	1,5	0,36
0,37	0,1	0,81	-
0,39	0,09	0,9	-
0,41	0,11	1,02	0,42
0,4	0,14	1,1	0,38
0,42	0,12	1,12	0,37
0,39	0,12	0,85	0,43
0,37	0,11	0,93	0,37
0,40	0,12	0,92	0,29

Effets IMAO de l'iproniazide et de la tranylcypromine

Aux doses de 100 mg/kg d'IIH et 5 mg /kg de PCP, l'inhibition est totale dans tous les homogénats tissulaires en 30 mn.

Les doses de 10 mg/kg d'IIH après 6 h et 0,5 mg/kg de PCP après 30 mn donnent les pourcentages d'inhibition qui figurent dans le Tableau 13.

Si nous comparons ces résultats à ceux que nous avons obtenus dans des conditions identiques chez le Rat, nous constatons les ressemblances et les différences suivantes :

L'iproniazide est beaucoup moins active chez la Souris sur les MAO du cerveau et de l'intestin.

La tranylcypromine a même activité chez la Souris et chez le Rat quand on considère le cerveau, l'intestin, le foie ; elle est moins active chez la Souris vis-à-vis de la MAO cardiaque.

Nous noterons ici que HOPE et SMITH (1960) signalent que les Souris pourraient être plus ou moins sensibles à l'iproniazide, les résultats qu'ils ont obtenus ne coïncident pas avec ceux qu'avait publiés DAVISON.

Essai d'une surcharge tissulaire en cuivre

La présence de cuivre dans l'enzyme, son rôle hypothétique dans l'inhibition de la MAO par les hydrazines (OGAWA et KUBOSAWA, 1963), nous ont fait supposer qu'un apport en cuivre pourrait modifier l'activité de l'enzyme et son inhibition par l'iproniazide.

On peut aisément surcharger en cuivre les tissus de Souris par administration répétée de sulfate de cuivre (TAVERNIER, 1959). Le cuivre s'accumule en particulier dans le foie. Nous avons pratiqué pendant 8 jours une injection quotidienne i.p. de 20 μ g de SO_4Cu (dans un volume de 0,1 ml).

Nous avons dosé l'activité MAO dans un lot de 5 souris ainsi traitées, et d'autre part, nous avons administré à un autre lot traité 10 mg/kg d'iproniazide. L'analyse est faite 6 h plus tard. (Tableau 13).

La surcharge en cuivre provoque une inhibition de l'activité MAO. Celle-ci se surajoute à celle qu'apporte l'administration ultérieure d'iproniazide, sauf pour le coeur, où, comme dans le cas de la chlorpromazine chez le Rat, l'effet de l'iproniazide est diminué.

Essai d'agents chélatants

Nous avons vu que les agents chélatants inhibaient plus ou moins l'activité MAO de préparations mitochondriales. Nous nous sommes demandé si nous trouverions, dans nos conditions expérimentales, une influence de ces agents sur l'activité enzymatique in vivo et sur son inhibition par les IMAO.

Nous avons utilisé l'éthylénediaminotétracétate de sodium (Complexon III, EDTA) et le diéthylthiocarbamate de sodium (DDTC).

Essai de EDTA

Nous avons administré 0,2 mg à 5 souris. Elles ont été sacrifiées 3 h plus tard.

Les résultats obtenus (Tableau 13) montrent qu'il y a eu inhibition de MAO dans le cerveau et surtout dans le foie, et, fort curieusement, une augmentation d'activité dans le coeur.

Essai de DDTC

Le DDTC a été trouvé comme métabolite du disulfirame, et les deux substances sont des inhibiteurs puissants de la dopamine β hydroxylase (PFEIFFER et coll., 1966 - JONSSON, 1967 - MAJ et PRZEGALINSKI, 1967). L'action sédatrice du DDTC qui est potentialisée par un IMAO (nialamide) ne peut-être totalement attribuée à l'inhibition de cette enzyme (CARLSSON et coll., 1967).

Il nous a donc paru intéressant d'examiner l'action éventuelle du DDTC seul et associé à un IMAO.

Le DDTC a été administré à la dose de 500 mg/kg à 10 Souris. Le premier lot de 5 Souris a été sacrifié après 3 h. Les Souris du second lot ont reçu, 3 h après le DDTC, une dose de 0,5 mg/kg de tranylcypromine et ont été sacrifiées 30 mn plus tard (Tableau 13).

Le DDTC seul produit une assez faible inhibition de la MAO, ce qui confirme les résultats de SOURKES (1968) sur l'enzyme purifié.

Après la tranylcypromine, on constate que l'administration préalable de DDTC n'a produit aucun changement dans l'effet inhibiteur de la PCP, tandis qu'au niveau du coeur, il y a une nette augmentation (20 %) de l'inhibition.

Tableau 13

Pourcentage d'inhibition de MAO chez la souris
par diverses substances

	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin
IPRONIAZIDE				
10 mg/kg après 6 h	57	53	100	64
TRANLYCYPROMINE				
0,5 mg/kg après 30 mn	58	40	68	71
SO ₄ Cu	15	12,5	16	
SO ₄ Cu et Iproniazide	66	48	100	73
EDTA				
0,2 mg/Souris après 3 h	25	+ 20	37	
DDTC				
500 mg/kg après 3 h	15	10	6	
DDTC et TRANLYCYPROMINE	55	64	67	

EXPERIMENTATION SUR LE LAPIN ---

Nous avons déterminé d'une part le taux d'activité MAO de divers tissus et d'autre part l'inhibition enzymatique provoquée par la tranlycypromine (PCP) à la dose de 5 mg/kg après 18 h.

Tableau 14

Activité MAO et inhibition par la tranlycypromine

	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin	Rein	Rate
Activité MAO	3,80	2,2	22,4	4,32	5,40	2,12
% d'inhibition par PCP	27,3	100	33,2	79,6	62,2	

Ces résultats mettent en évidence la très forte inhibition de l'enzyme cardiaque, que nous avons d'ailleurs confirmé dans d'autres essais.

EXPERIMENTATION SUR LE COBAYE

Nous avons déterminé, d'une part le taux d'activité MAO du cerveau, du coeur, du foie et de l'intestin grêle, et d'autre part, l'inhibition enzymatique provoquée par la tranylcypromine (PCP) à la dose de 0,5 mg/kg après 30 mn.

Tableau 15

Activité MAO et inhibition par la tranylcypromine

	Cerveau	Coeur	Foie	Intestin
Activité MAO	3,6	1,84	26	3,04
% d'inhibition par PCP	69	100	93	75

L'activité MAO du coeur de Cobaye se montre donc, comme celle du coeur de Lapin, extrêmement sensible à l'effet inhibiteur de la PCP.

EXPLORATION DU CATABOLISME DES CATECHOLAMINES

SOUS L'EFFET DES IMAO

La conséquence directe de l'inhibition de la MAO doit être une augmentation du taux tissulaire des catécholamines et de la sérotonine en particulier au niveau du cerveau, et une diminution du taux d'excrétion des acides provenant de leur catabolisme.

Or, comme nous l'avons vu, une incertitude persiste en ce qui concerne les catécholamines du fait de l'intervention des deux enzymes, la MAO et la COMT.

Nous avons d'abord cherché à mettre en évidence une éventuelle modification du taux des catécholamines cérébrales. Nous avons utilisé une des nombreuses techniques dont le principe est le suivant :

- extraction des catécholamines par l'acide perchlorique
- adsorption sur alumine à pH 8,5
- élution par l'acide acétique 0,2 N
- oxydation en adrénochrome et noradrénochrome par le ferricyanure de potassium, puis transformation en trihydroxyindoles fluorescents.
- stabilisation de la réaction fluorescente par addition d'acide ascorbique.

(BOHUON et COMOY, 1968)

L'appareil de fluorescence dont nous disposions nous obligeait à faire un dosage global Adrénaline + Noradrénaline, et la méthode s'est révélée comme étant assez peu sensible. Les résultats que nous avons obtenus nous ont seulement permis de juger que s'il y avait un choix à faire parmi les IMAO, ce devait être en faveur du nialamide chez le Lapin et de l'iproniazide chez le Rat.

Nous avons alors étudié l'élimination de l'acide vanilmandélique.

Excrétion de l'acide 3 - méthoxy 4 - hydroxy-mandélique
(acide vanilmandélique) chez le Lapin et chez le Rat

1) Technique (d'après PISANO et coll., 1962)

PRINCIPE :

L'acide vanilmandélique extrait de l'urine par l'acétate d'éthyle est oxydé en vanilline par le périodate. La vanilline formée est dosée par spectrophotométrie.

REACTIFS :

1°) - Métapériodate de sodium (IO_4Na) à 2 % dans l'eau.

Préparer la solution à l'abri de la lumière. Conserver au réfrigérateur en flacon brun. Stable 3 semaines.

2°) - Métabisulfite de sodium ($\text{S}_2\text{O}_5\text{Na}_2$) à 10 % dans l'eau

Conserver au réfrigérateur. Stable 3 semaines.

3°) - Acide chlorhydrique 6 N : acide chlorhydrique Merck d = 1,95
dilué au 1/2 dans l'eau.

4°) - Carbonate de potassium 1 M :

CO_3K_2 R. P.	13,820 g
Eau distillée q.s.p.	100 ml

5°) - Acide acétique 5 N

Acide acétique R. P.	28,5 ml
Eau distillée q.s.p.	100 ml

6°) Tampon phosphate pH = 7,5 :

PO_4KH_2 R.P.....	3,6 g
Eau distillée.....	q.s.p. 80 ml
$\text{PO}_4\text{K}_2\text{H}$ R.P.....	q.s.p. pH = 7,5
Eau distillée.....	q.s.p. 100 ml

7°) Acétate d'éthyle R.P. pour usages scientifiques

8°) Chlorure de sodium R.P.

9°) Solution étalon d'acide 3 méthoxy-4 hydroxy mandélique à
100 γ ml dans ClH 0,01 N. Stable trois mois au moins à + 4°C.

10°) Toluène pur Prolabo.

MODE OPERATOIRE

Les urines sont recueillies en présence de quelques gouttes d'HCl 6N.

1) Extraction : Elle est faite en ampoules à décanter d'une capacité de 100 ml.

	T (ml)	D (ml)	E 25 (ml)
Urine filtrée.....	3	3	3
Solution étalon 100 γ /ml	0	0	0,25
Eau distillée.....	2,5	2,5	2,25
ClH 6 N.....	0,5	0,5	0,5
ClNa.....	3	3	3
Acétate d'éthyle.....	30	30	30

Les ampoules sont bouchées et agitées mécaniquement pendant 5 minutes. Puis, on attend le temps nécessaire pour obtenir la séparation des phases.

2) Reprendre dans des ampoules à décanter de 100 ml :

	T (ml)	D (ml)	E (ml)
Extrait dans acétate d'éthyle.....	25	25	25
CO_3K_2 1 M.....	1,5	1,5	1,5

Les ampoules sont traitées comme précédemment.

3) Oxydation. Reprendre dans des tubes à centrifuger de 30 ml

	T (ml)	D (ml)	E (ml)
Extrait dans CO_3K_2	1	1	1
Périodate.....	0	0,1	0,1

Placer tous les tubes dans un bain-marie à 50° C pendant 30 mn. Refroidir.

4) Ajouter :

	T (ml)	D (ml)	E (ml)
Solution métabisulfite..	0,1	0,1	0,1
Périodate.....	0,1	0	0
Acide acétique 5 N.....	0,3	0,3	0,3
Tampon pH 7,5.....	0,6	0,6	0,6
Toluène.....	20	20	20

Boucher, agiter 3 mn.. Centrifuger 5 mn.

5) Dans des tubes à centrifuger de 30 ml, reprendre :

	T (ml)	D (ml)	E (ml)
Extrait dans toluène....	15	15	15
CO_3K_2 1 M.....	3	3	3

Boucher, agiter 3 mn..Centrifuger 5 mn.

Les lectures sont faites au spectrophotomètre Beckman D.U.
à 340 $\text{m}\mu$ contre la solution de CO_3K_2 .

CALCULS

$$\frac{\text{DO (D)} - \text{DO (T)}}{\text{DO (E)} - \text{DO (D)}} \times \frac{25}{3} \times \text{volume d'urine en 24 h} = \text{ac. vanilmandélique en } \mu\text{g/24 h.}$$

2) Conditions expérimentales

a) concernant le Lapin

Chaque Lapin est placé dans une cage métallique dont les parois ont été tapissées de plastique de manière à éviter les pertes d'urine par projection. La cage est placée sur un plateau incliné vers son centre percé de plusieurs trous. Un morceau de gaze est étalé sur ces trous pour empêcher que les débris de nourriture viennent souiller l'urine qui est recueillie dans un petit cristallisoir mis sous le plateau.

La nourriture, constituée par la betterave et des aliments équilibrés en quantités fixes, est distribuée régulièrement deux fois par jour à 11 h. et 18 h.

Le plateau est nettoyé après chaque défécation de l'animal, afin d'éviter le contact de l'urine avec les crottes.

L'expérience montre que la diurèse est extrêmement variable suivant l'animal, et chez un même animal elle peut varier considérablement malgré la permanence de conditions ambiantes identiques. Ce qui explique que nous n'avons pu garder comme sujet valable qu'un seul Lapin parmi tous ceux que nous avons mis en expérience.

L'analyse est faite sur les urines recueillies pendant 24 h. dans le cristallisoir contenant quelques gouttes d'HCl 6 N.

Les résultats rapportés concernent le même Lapin, dont les urines ont été examinées avant l'administration de nialamide et 24 h. après son administration à la dose de 200 mg/kg i.v. (Tableau 15)

b) concernant le Rat

Les Rats sont placés au nombre de 3 ou 4 (suivant leur taille) dans une cage à métabolisme en plastique. Ils y sont laissés pendant 24 h. avec eau à volonté, mais sans nourriture, n'ayant pu éviter qu'elle souille les urines. Il arrive aussi que celles-ci soient diluées accidentellement par l'eau du biberon, lors de la succion par les Rats. Les urines sont recueillies dans un petit cristalliseur contenant quelques gouttes d'HCl 6 N.

Pendant les 24 h. suivantes, les Rats sont remis en cage avec de la nourriture, puis placés à nouveau pendant 24 h. dans les cages à métabolisme.

Nous avons retenu pour notre expérimentation deux groupes de 4 Rats qui, lors de cet entraînement, avaient fourni des volumes urinaires pratiquement égaux et des quantités d'acide vanilmandélique voisines.

Les résultats ont été obtenus pendant 3 périodes de 24 h. avant l'administration d'iproniazide, et 24 h. après cette administration à la dose de 100 mg/kg i.p. (Tableau 15)

3) RésultatsTableau 16

Elimination de l'acide vanilmandélique chez le Lapin et le Rat
avant et après administration d'un IMAO

	Diurèse de 24 h en ml	acide vanilmandélique en $\mu\text{g}/24\text{ h}$
LAPIN		
Avant nialamide	52	59,28
Après nialamide	65	75,80
RATS (8)		
Avant iproniazide	22	71,50
	23	62,10
	21	63
Après iproniazide	25	67,5

4) Conclusions

Nous n'observons ni chez le Lapin, ni chez les Rats la diminution d'excrétion d'acide vanilmandélique qui correspondrait à une diminution du métabolisme des catécholamines du fait de l'inhibition de la MAO. Chez le Lapin, il y a même une augmentation, que nous ne pouvons interpréter sur un seul examen. Par contre, nos résultats concernant les Rats sont mieux établis.

Nous concluons donc que, dans nos conditions expérimentales, l'inhibition de la MAO chez le Lapin et chez le Rat n'a pas entraîné de modifications sensibles du métabolisme des catécholamines.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons rassemblé dans une 1^{ère} PARTIE les données essentielles sur la monoamine-oxydase (MAO). Cet enzyme joue un rôle suffisamment important dans le métabolisme de la cellule nerveuse centrale pour que son inhibition soit considérée comme étant en grande partie responsable des effets antidépressifs des médicaments dits IMAO.

Nous avons essayé d'analyser les résultats expérimentaux concernant les conséquences de cette inhibition. Il en ressort une accumulation de faits dont la coordination exige encore des recherches.

Parmi les méthodes de dosage de l'activité MAO qui ont été jusqu'alors proposées et dont nous donnons les éléments caractéristiques, nous avons choisi l'une des plus récentes pour étudier quelques aspects de l'inhibition de la MAO.

La 2ème PARTIE de notre Travail est entièrement consacrée à notre étude expérimentale.

La méthode à la cynuramine dont nous avons adopté le principe présentait des inconvénients que nous pensons avoir éliminés en faveur d'une simplification de technique et d'une plus grande sensibilité.

Nous avons introduit dans la méthode une défécation à l'hydrate de zinc après la réaction enzymatique. Ceci nous permet d'utiliser dans cette réaction des homogénats tissulaires totaux.

D'autre part, nous repérons l'activité MAO d'après la quantité de 4-hydroxyquinoline formée à partir du substrat enzymatique, la cynuramine. Pour cette estimation, nous mettons à profit une particularité du spectre, l'accroissement brusque de l'absorption entre deux longueurs d'onde. Cette mesure s'est révélée comme étant fidèle et sensible, contrairement à d'autres repères de l'absorption spectrale.

Nous proposons, en conséquence, une technique de dosage et une mesure d'activité MAO aisément repérable, sensible et fidèle.

A l'aide de cette méthode nous avons obtenu les résultats suivants :

1°) Dans les conditions expérimentales que nous avons définies, nous avons d'abord déterminé le taux d'enzyme dans le cerveau, le coeur, le foie et l'intestin grêle du Rat, de la Souris, du Lapin et du Cobaye.

Nous avons confirmé l'accroissement de l'activité MAO dans le coeur du Rat en fonction du poids de l'animal et nous avons, d'autre part, pu comparer l'activité MAO chez le Rat blanc et chez le Rat noir.

2°) Nous avons choisi deux médicaments antidépressifs IMAO qui nous paraissaient les plus intéressants, l'iproniazide et la tranylcypromine. Nous avons comparé l'intensité de leurs effets inhibiteurs chez l'animal vivant.

a) L'inhibition de l'activité MAO par l'iproniazide se manifeste dans l'ordre suivant :

Rat	:	foie > intestin > cerveau > coeur
Souris	:	foie > intestin > cerveau - coeur

L'inhibition par la tranylcypromine se manifeste dans l'ordre suivant :

Rat	:	foie > intestin > coeur - cerveau
Souris	:	intestin - foie > cerveau > coeur
Lapin	:	coeur > cerveau > foie > intestin > rein
Cobaye	:	coeur > foie > intestin > cerveau

b) L'iproniazide et la tranylcypromine apparaissent donc comme ayant des effets semblables chez le Rat et chez la Souris.

L'inhibition au niveau du coeur place cet organe en début ou en fin de liste suivant qu'il s'agit du Lapin et du Cobaye ou du Rat et de la Souris.

Ces résultats obtenus sur un dosage direct d'activité MAO sont comparables entre eux, et divergent, sans doute pour cette raison, de données antérieures.

3°) Au cours de ces expériences, nous avons observé la reprise d'activité de la MAO après son inhibition, et nous avons remarqué qu'elle conduisait à une activité enzymatique plus élevée que celle du témoin dans le coeur et l'intestin. Cette observation que nous n'avons trouvée signalée qu'une fois, à propos du foie, appellerait une étude plus approfondie, certainement fructueuse.

4°) Nous avons examiné quelques cas d'intervention mal connue de médicaments autres que les IMAO.

a) C'est ainsi que chez le Rat nous avons obtenu un effet inhibiteur important de la MAO du coeur par la réserpine, alors qu'à notre connaissance cette substance a été seulement indiquée comme ayant produit une augmentation de l'activité enzymatique.

b) Nous avons mis en évidence des effets inhibiteurs de la chlorpromazine, indiquée comme une substance faiblement active ^{sur MAO} ~~au niveau~~ du système nerveux central, mais on ne doit pas ignorer son intervention sur le système cardiovasculaire.

Faudrait-il sortir la MAO du cadre étroit du S.N.C., n'a-t-elle pas une importance notable au niveau d'autres organes ? on sait bien que la sérotonine tire son nom d'une action sur le système vasculaire bien que son importance dans le S.N.C. se soit avérée par la suite capitale. Il nous semble important de poser cette question.

c) Du fait que la MAO contient du cuivre, et que celui-ci est supposé intervenir dans la réaction enzymatique, dans certains cas, nous avons fait deux sortes d'expériences chez la Souris.

a) Nous avons enrichi les tissus de Souris en cuivre par administration répétée de sulfate de cuivre. Nous avons constaté une inhibition de l'activité MAO. Cette inhibition se surajoute à celle qui est ultérieurement produite par un IMAO, sauf dans le cœur.

b) L'administration de chélateurs, l'éthylène diamino-tétracétate de sodium (EDTA) et le diéthylldithiocarbamate de sodium (DDTC) provoque une inhibition de l'enzyme. Cette inhibition est très marquée pour le foie (38 %) dans le cas de l'EDTA, alors qu'elle se manifeste surtout pour le cerveau et le cœur dans le cas du DDTC, dont les effets sont moins intenses.

5°) Enfin, la relation entre l'effet antidépressif des IMAO et l'accroissement du taux cérébral des catécholamines étant, comme nous l'avons vu, assez discuté, nous avons essayé d'apporter une contribution, malheureusement assez réduite, en dosant l'acide vanilmandélique urinaire chez le Lapin et chez le Rat après administration d'un IMAO.

Ces expériences ne mettent en évidence aucune variation significative et corroborent donc celles qui, jusqu'à présent, n'ont pu établir de rapport étroit entre l'inhibition de la MAO et la transformation des catécholamines par cet enzyme.

Nous pensons que l'ensemble de ces résultats constitue un apport intéressant dans la connaissance de l'activité de la MAO et son inhibition, aussi bien au niveau central que périphérique.

B I B L I O G R A P H I E

1. ALLEVA J.J.
Metabolism of tranylcypromine-C¹⁴ and l-amphetamine-C¹⁴ in the rat.
J. Med. Chem., 1963, 6, 621.
2. AMAR - COSTESEC A., BOHUON C.
Données expérimentales sur la préparation de la monoamine oxydase de foie de Cobaye.
Rev. Fr. Etudes Clin. Biol., 1965, 10, 746.
3. BARBATO L., ABOOD L.
Purification and properties of monoamine oxidase.
Biochem. Biophys. Acta, 1963, 67, 531.
4. BARTLET A.L.
The 5-hydroxytryptamine content of mouse brain and whole mice after treatment with some drugs affecting the central nervous system.
Brit. J. Pharmacol., 1960, 15, 140.
5. BAUDHUIN P., BEAUFAY H., RIESEN-LI X., SELLINGER O.Z., WATTIAUX R.
Tissue fractionation studies.
Biochem. J., 1964, 92, 179.
6. BERTLER A., ROSENGREN E.
On the distribution in brain of monoamines and of enzymes responsible for their formation.
Experientia, 1959, 15, 382.
7. BHARGAVA V.
Effect of α -méthyldopa on acetylcholine content of rat brain, heart and intestine.
Nature, 1967, 215 (3), 202.
8. BOGDANSKI D.F., UDENFRIEND S.
Serotonin and monoamine oxydase in brain.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1956, 116, 7.
9. BOGDANSKI D.F., WEISSBACH, UDENFRIEND S.
The distribution of serotonin, 5, hydroxytryptophan decarboxylase, and monoamine oxidase in brain.
J. Neurochim., 1957, 1, 272.

10. BOHUON C., COMOY E.
 Problèmes analytiques et biologiques posés par l'exploration du métabolisme des catécholamines.
 Problèmes actuels de Biochimie Appliquée, 2ème Série, Paris, Masson, 1968.
11. BOISSIER J.R., GUIDICELLI J.
 Métabolisme, répartition, fixation et libération des catécholamines.
 Thérapie, 1965, 20, 837.
12. BRODIE B.B., SPECTOR S., SHORE P.
 Interaction of monoamine oxidase inhibitors with physiological and biochemical mechanisms in brain.
 Ann. NY, Ac. Sc., 1965, 80, 601.
13. CARLSSON A., FALCK B., HILLARP N.A.
 Cellular localization of brain monoamines.
 Acta physiol. Scand., 1962, 56, suppl. 196.
14. CARLSSON A., FUXE K., HOKFELT T.
 Failure of dopamine to accumulate in central noradrenaline neurons after depletion with diethyl-dithiocarbamate.
 J. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 481.
15. CARLSSON A., WALDECK B.
 The accumulation of ³H noradrenaline in the adrenergic nerve fibres of reserpine-treated mice.
 J. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 182.
16. CHODERA A., GORKIN Y., GRIDNIEVA L.
 Über den Wirkungsmechanismus einiger Monoaminoxidase - Hemmer.
 Acta Biol. Med. German., 1964, 13, 101.
17. COQ H., BARON C.
 Etude cinétique de l'activité monoamine oxydasique de mitochondries de foie de Rat.
 Bull. Soc. Chim. Biol., 1968, 50, 263
18. CORRODI H.
 Blockage of the psychotic syndrome caused by nialamide in mice.
 J. Pharm. Pharmacol., 1966, 18, 197.
19. CORRODI H., FUXE K., HOKFELT T.
 Replenishment by 5-hydroxytryptophan of the amine stores in the central 5-hydroxytryptamine neurons after depletion induced by reserpine or by an inhibitor of monoamine synthesis.
 J. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 433.

20. CREASEY N.H.
Factors which interfere in the manometric assay of monoamine oxidase.
Biochem. J., 1956, 61, 178.

21. CROUT J.R., CREVELING C.R., UDENFRIEND S.
Norepinephrine metabolism in rat brain and heart.
Biochem. J., 1956, 64, 178.

22. COUTEAUX R., BOUCHAUD Cl., GAUTRON J.
Données histochimiques sur l'inhibition in vitro et in vivo des monoamine-oxydases.
Actualité Pharmacol., 18ème série, 1965, 33.

23. DAALSTROM A., FUXE K., HAMBERGER B., HOKFELT I.
Uptake and storage of catecholamines in rabbit brain after chronic reserpine treatment.
J. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 345.

24. DAVISON A.N.
The mechanism of irreversible inhibition of rat-liver monoamine oxidase by iproniazide (Marsilid).
Biochem. J., 1957, 67, 316.

25. DAVISON A.N.
Physiological role of monoamine oxidase.
Physiol. Rev., 1958, 38, 729.

26. DAVISON A.N.
Inhibition of brain monoamine oxidase.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1958, 40, 1737.

27. DEQUATTRO V., SJOERDSMA A.
Origin of urinary tyramine and tryptamine.
Clin. Chim. Acta, 1967, 16, 227.

28. DENYS A., LEVY J., MICHEL BER E.
La potentialisation des effets excito-moteurs de la tryptamine chez le Rat et chez la Souris, permet-elle de mesurer l'activité des inhibiteurs de la monoamino-oxydase ?
J. Physiol., 1965, 57, 457.

29. DUBNICK E., LEESON G.A., PHILLIPS G.E.
An effect of monoamine oxidase inhibitors on brain serotonin of mice in addition to that resulting from inhibition of monoamine oxidase.
J. Neurochemistry, 1962, 9, 229.

30. EHRINGER Y., HORNYKIEWICZ O., LECHNER K.
Die Wirkung des chlorpromazins auf den Katecholamin - und 5-Hydroxytryptamin - Stoffwechsel in Gehirn der Ratte.
Naunyn Schied. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 1960, 239, 507.
31. FULLER R.W.
Kinetic studies and effects in vivo of a new monoamine oxidase inhibitor, N - 2 - (O-chlorophenoxy)-Ethyl - cyclopropylamine.
Biochem. Pharmacol., 1968, 17, 2097.
32. FULLER R.W., WALTERS C.P.
Inhibition of monoamine oxidase action on kynuramine by substrate and stereoisomeric α - methylamines.
Biochem. Pharmacol., 1965, 14, 159.
33. FUXE K., UNGERSTEDT U.
Localization of 5-hydroxytryptamine uptake in rat brain after intraventricular injection.
J. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 335.
34. GAL E.M., MILLARD S.
The relevancy of changes in cerebral 5-hydroxytryptamine to reserpine-produced sedation.
Biochem. Pharmacol., 1968, 17, 2193.
35. GARATTINI S., GIACHETTI A., HERI L.
Oxidation of ceruloplasmin substrates by serum of different animal species.
Arch. Biochem. Biophys., 1960, 91, 83.
36. GEY K.F., BURKARD W.FP; PLETSCHER A.
Altersbedingte Veränderungen des Catecholaminstoffwechsels im Rattenherzen.
Helv. physiol. pharmacol. Acta, 1964, 22, C 17.
37. GEY K.F., PLETSCHER A., BURKARD W.
Effect of inhibitors of monoamine oxidase on various enzymes and on the storage of monoamines.
Ann. N-Y, Ac. Sc., 1963, 107, 1147.
38. GERSHON M.D., BRAKONTIDES A.B., ROSS L.L.
Serotonin : synthesis and release from the myenteric plexus of the mouse intestine.
Science, 1965, 149, 197.
39. GLOWINSKI J.
Récentes acquisitions sur le métabolisme cérébral des catécholamines.
Actualités Pharmacol., 1967, 20ème série, 29.

40. GOGERTY J.H., HORITA A.
A comparison of the in vivo monoamine oxidase inhibitory properties of iproniazid and beta-phenylisopropylhydrazine
Fed. Proc., 1959, 18, 395.
41. GORKIN V.Z.
Monoamine oxidases.
Pharmacol., Rev., 1966, 18, 115.
42. GOSCHKE H.
Spezies- Unterschiede bei der Wirkung von Monoamino-oxydase - Hemmern.
Arch. Int. Pharmacod., 1964, 133, 245.
43. GRANA E., LILLA L.
The inhibition of amine oxidase and the central stimulating action of the stereoisomeric amphetamine and l-phenyl-ethylamines.
Brit. J. Pharmacol., 1959, 14, 501.
44. GREEN A.L.
Studies on the mechanism of inhibition of monoamine-oxidase by hydrazine derivatives.
Biochem. Pharmacol., 1964, 13, 249.
45. GREEN H., ERICHSON W.
Further studies with tranlylcypromine (monoamine oxidase inhibitor) and its interaction with reserpine in rat brain.
Arch. Intern. Pharmacod., 1962, 135, 407.
46. GREEN A.L., HAUGHTON T.M.
A colorimetric method for the estimation of monoamine oxidase.
Biochem. J., 1961, 78, 172.
47. GREEN H., SAWYER J.L.
Intracellular distribution of serotonin in rat brain.
Arch. Intern. Pharmacod., 1962, 135, 426.
48. GUHA S.R.
Inhibition of purified rat liver mitochondrial monoamine oxidase by trans-2-phenyl-cyclopropyl amine.
Biochem. Pharmacol., 1966, 15, 161.
49. GUNNE L.M., JONSSON J.
On the occurrence of tyramine in the rabbit brain.
Acta Physiol. Scand., 1965, 64 , 434.
50. GWEE M.C., YEOH T.S.
The release of 5-hydroxytryptamine from rabbit small intestine in vitro.
J. Physiol., 1968, 194, 817-25.
51. HAGGENDAL J., LINDQVIST M.
Behaviour and monoamine levels during longterm administration of reserpine to rabbits.
Acta Physiol. Scand., 1963, 57, 431.

52. HARDEGG W., HEILBRONN E.
Oxydation von Serotonin und Tyramin durch Rattenleber Mitochondrien.
Biochim. Biophys. Acta, 1961, 51, 563.
53. HESS S.M., REDFIELD B.G., UDENFRIEND S.
The effect of monoamine oxidase inhibitors and tryptophan on
the tryptamine content of animal tissues and urine.
J. Pharmacol., Exp. Therap., 1959, 127, 178-81.
54. HESS S.M., WEISSBACH H., REDFIELD B.G., UDENFRIEND S.
The relationship between iproniazid metabolism and the duration
of its effect on monoamine oxidase.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1958, 124, 189.
55. HIDAKA H., NAGATSU T., YAGI K.
Micro-determination of monoamine oxidase using serotonin as
substrate.
J. Biochemistry, 1967, 62, 621.
56. HOLZER G., HORNYKIEWICZ O.
Über den Dopamin - (hydroxytyramin) Stoffwechsel im Gehirn der
Ratte.
Naunyn Schmied. Arch. Exp. Pathol. Pharmac., 1959, 237, 27.
57. HOPE D.B., SMITH A.D.
Distribution and activity of monoamine oxidase in mouse tissues.
Biochem. J., 1960, 74, 101.
58. HORITA A.
Cardiac monoamine oxidase in Rat.
Nature, 1967, 215, 411.
59. HORITA A.
The influence of age on the recovery of cardiac monoamine oxidase
after irreversible inhibition.
Biochem. Pharmacol., 1968, 17, 2091.
60. HORITA A., WEBER J.L.
Drugs affecting enzyme systems.
Ann. Rep. Medic. Chemistry, 1967, p. 252 - Acad. Press. N-Y Lond.
1968.
61. HUERTAS M.
Contribution à l'étude des inhibiteurs de la monoamine oxydase.
Thèse Pharmacie Toulouse, 1965.
62. JOHANNPETER R.
Hépatites mortelles à la suite de l'administration d'un inhibiteur
de la monoamine-oxydase : l'iproniazide.
Thèse médecine Nancy, 1963.

63. JOHNSTON J.P.
Some observations upon a new inhibitor of monoamine oxidase in brain tissue.
Biochem. Pharmacol., 1968, 17, 1285.
64. JONSSON J.
Phenylethyldithiocarbamate : a new dopamine β hydroxylase inhibitor.
J. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 201.
65. KLINGMAN G.L., KARDAMAN S., HABER S.
Amin β -levels, monoamine oxidase and dopa-decarboxylase activities in the gastro-intestinal tract of the rat.
Life Sc., 1964, 3, 1355.
66. KOELLE G. G., WALK (de) A.
Physiological implications of the histochemical localisation of monoamine oxydase.
J. Physiol., 1954, 126, 434.
67. KOIVUSALO M., PENTTILA I., RAINA A., TENHUNEN R.
Effect of hydrazides on liver alanine and aspartate transaminases and lactate dehydrogenase in developing chick embryo.
Acta Physiol., Scand., 1963, 57, 454.
68. KOPIN I.L.
Storage and metabolism of catecholamines : the role of monoamine oxidase.
Pharmacol. Rev., 1964, 16, 179.
69. KRAJL M.
A rapid microfluorometric determination of monoamine oxydase.
Biochem. Pharmacol., 1965, 14, 1684.
70. KULKARNI A.S., SHIDEMAN F.E.
Catecholamine accumulation in the brain of infant and adult rats after monoamine oxidase inhibition.
Europ. J. Pharmacology, 1968, 3, 269.
71. LABADIE P.
La mono-amine-oxydase et ses inhibiteurs.
Rev. Praticien, 1968, n° 31, 4647.
72. LEVY J.
Dérivés des hydrazides et hydrazines inhibiteurs de la monoamine oxydase. Mécanismes évoqués pour justifier leurs effets pharmacologiques.
Actualités Pharmacol., 14ème série, 1961, 125.
73. LEVY J.
Amine-oxydases
Thérapie, 1968, 23, 1003.

74. LEVY J., MICHEL-BER R.
Hypothèse sur les mécanismes d'action des inhibiteurs de la mono-amino-oxydase au niveau du système nerveux central.
C.R. Acad. Sc., 1960, 250, 415.
75. LEVY J., MICHEL-BER E.
Commentaires sur l'interprétation pharmacologique des effets cliniques spécifiques et secondaires des inhibiteurs de la monoamine-oxydase.
Actualités Pharmacol., 18ème série, 1965, 241.
76. LOVENBERG, LEVINE R.J., SJOERDSMA A.
A sensitive assay of monoamine oxidase activity in vitro : application to heart and sympathetic ganglia.
J. Pharm. Exp. Therap., 1962, 135, 7.
77. MAITRE L.
Monoamine oxidase inhibiting properties of Su-11, 739 in the rat. Comparison with pargyline, tranylcypromine and iproniazid.
J. Pharm. Exp. Therap., 1967, 157, 81.
78. MAJ J., PRZEGALINSKI E.
Disulfiram and the effect of catecholamines on neuroleptic-induced catalepsy in mice and rats.
J. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 68.
79. MATSUOKA M., YOSHIDA H., IMAISUMI R.
Distribution of catecholamines and their metabolites in rabbit brain.
Biochem. Biophys. Acta, 1964, 82, 439.
80. Mc CAMAN R.E., Mc CAMAN M.W., HUNT J.M., SMITH M. S.
Microdetermination of monoamine oxidase and 5-hydroxytryptophan decarboxylase activities in nervous tissues.
J. Neurochem., 1965, 12, 15.
81. MEO G., PISANI W., BONZANINO A.
Azione degli inibitori della monoamino-ossidasi sul contenuto in aminochetoni nei tessuti di ratto.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., 1965, 41, 851.¹/₄
82. NEFF N.H., COSTA E.
The influence of monoamine oxidase inhibition on catecholamine synthesis.
Life Sc., 1966, 5, 951.
83. NOVICK W.J.
The effect of age and thyroid hormones on the monoamine oxidase of rat heart.
Endocrinology, 1961, 69, 55.
84. OGAWA Y., KUBOSAWA A.
Inhibition of monoamine oxidase (MAO) of the rabbit liver mitochondria by some inhibitors.
Biochem. Pharmacol., 1963, suppl. 12, 134, 40.

85. OSWALD E.O., STRITTMATER C.F.
Comparative studies in the characterization of monoamine-oxidase.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1963, 114, 668.
86. OZAKI M., WEISSBACH H., OZAKI A., WITROP B., UDENFRIEND S.
Monoamine oxidase inhibitors and procedures for their evaluation
in vivo and in vitro.
J. Med. Pharm. Chemistry, 1960, 2, 591.
87. PARMAR S., POULOSE Q., BHARGAVA K.
Effects of monoamine oxidase inhibitors on 5-hydroxytryptamine
content in different anatomical areas of dog brain.
Biochem. Pharmacol., 1967, 16, 22.
88. PENTILLA A.
Distribution and intensity of monoamine oxidase activity in
the mammalian duodenum.
Acta Physiol. Scand., 1968, 73, 121.
89. PERKS E.R.
Monoamine oxidase inhibitors.
Anaesthesia, 1964, 19, 376.
90. PFEIFFER A., GALAMBOS E., GYORGY K.
Some central nervous properties of diethyldithiocarbamate.
J. Pharm. Pharmacol., 1966, 18, 254.
91. PISANO J.J., CROUT J.R., ABRAHAM D.
Determination of 3-methoxy 4-hydroxymandelic acid in urine.
Clin. Chim. Acta, 1962, 7, 285.
92. PLETSCHER A.
Wirkung von Isonicotinsäurehydraziden auf den 5-hydroxytryp-
taminstoffwechsel in vivo.
Helv. Physiol. Pharmac. Acta, 1956, 14, 676.
93. PLETSCHER A., GEY K., F., BURKARD W.P.
Inhibitors of monoamine oxidase and decarboxylase of aromatic
amino acids.
Handb. exp. Pharmacol. XIX
5-hydroxytryptamine and related indolealkylamines
Springer-Verlag Berlin - Heidelberg - New-York 1966.
94. POLONOVSKI M., SHAPIRA G., GONNARD P.
Constitution chimique et inhibition enzymatique : dopa-décar-
boxylase et amines inhibitrices. Rapports entre dopa-décarbo-
xylase et amine-oxydase.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1946, 28, 735.

95. POPOV N., MATTHIES H.JX.
Die Wirkung von Monoaminoxydase-Hemmstoffen und Reserpine auf den γ -amino-Buttersäure-Gehalt des Rattenhirns.
Acta Biol. Med. German., 1967, 18, 91.
96. POTTER L.T., AXELROD J.
Studies on the storage of norepinephrine and the effect of drugs.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1963, 140, 199.
97. PRATESI P., BLASCHKO H.
Specificity of amine oxidase for optically active substrates and inhibitors.
Brit. J. Pharmacol., 1959, 14, 256.
98. ROBINSON D.S., LOVENBERG W., KEISER H., SJOERDSMA A.
Effects of drugs on human blood platelet and plasma amine oxidase activity "in vitro" and "in vivo".
Biochem. Pharmacol., 1968, 17, 109.
99. ROWE R.P.
A pharmacologic summary of nialamide.
Diseases nerv. syst., sect. II, 1959, 20, suppl. 5, 5.
100. RUTLEDGE Ch. JONASON J.
Metabolic pathways of dopamine and norepinephrine in rabbit brain in vitro.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1967, 157, 493.
101. SARKAR S., BANERJEE R., ISE M.S., ZELLER E.A.
Über die Wirkung von 2- Phenylcyclopropyl-aminen auf die Monoaminoxydase und andere Enzym-systeme.
Helv. Chim. Acta., 1960, 43, 431.
102. SCHWARTZ D.E., BURKARD W.P., ROTH M., GEY K.F., PLETSCHER A.
Effect of chlorpromazine on the penetration of monoamine oxidase inhibitors and monoamine releasers into rat brain.
Arch. Intern. Pharmacod., 1963, 141, 135.
103. SJOERDSMA A., OATES J.A., ZALTZMAN P., UDENFRIEND S.
Identification and assay of urinary tryptamine : application as an index of monoamine oxidase inhibition in man.
J. Pharmacol., Exp. Therap., 1959, 126, 217.
104. SJOERDSMA A., SMITH T., STEVENSON T., UDENFRIEND S.
Metabolism of 5-hydroxytryptamine (Serotonin) by monoamine oxidase.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1955, 89, 36.
105. SOURKES T.L.
Properties of the monoamine oxidase of rat liver mitochondria.
Adv. in Pharmacol., 1968, 6, Part. A, 61.

106. SPECTOR S.
Monoamine oxidase in control of brain serotonin and norepinephrine content.
Ann. N-Y, Ac. Sc., 1963, 107, 856.
107. SPECTOR S., SHORE P.A., BRODIE B.B.
Biochemical and pharmacological effects of the monoamine oxidase inhibitors, iproniazid, 1-phenyl-~~X~~2-hydrazinopropane (JB 516) and 1-phenyl-3-hydrazino-butane (JB 835).
J. Pharmacol. Exp. Therap., 1960, 128, 15.
108. SPENCER J.N.
Sympathetic blocking action of iproniazide in the unanesthetized dog.
J. Pharmac. Sc., 1966, 55, 1473.
109. SQUIRES R.F.
Additional evidence for the existence of several forms of mitochondrial monoamine oxidase in the mouse.
Biochem. Pharmacol., 1968, 17, 1401.
110. SQUIRES R.F., LASSEN J.B.
Some Pharmacological and biochemical properties of-morpholino-butyrophenone (NSD 2023) a new monoamine oxidase inhibitor.
Biochem. Pharmacol., 1968, 17, 369.
111. STUDER A., BAUMGARTNER H.R., REBER K.
Histochemical evidence of monoamine oxidase activity in rats of different ages.
Histochemie, 1964, 4, 43.
112. TABOR C.W., TABOR H., ROSENTHAL S.N.
Purification of amine oxidase from beef plasma.
J. Biol. Chem., 1954, 208, 645.
113. TAVERNIER J.
Etude expérimentale de la fixation de l'ion cuivre par les tissus animaux, les protéines sériques et les hématies.
Thèse pharmacie (Etat), Nancy, 1959 .
114. TEDESCHI R.E., TEDESCHI D.M., AMES P.L., COOK L., MATTIS P.A., FELLOWS E.J.
Some pharmacological observations on tranlylcypromine (SKF trans-385) ; A potent inhibitor of monoamine oxidase (25256)
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 102, 380.
115. TIMSIT J.
Contribution à l'étude du mécanisme d'action de quelques inhibiteurs de la monoamine oxydase.
Thèse Sc. Paris, 1964, et J. Physiol., 1965, suppl. XI (a).

116. TIMSIT J.
Quelques aspects sur le métabolisme des médicaments antidépresseurs.
Thérapie, 1965, 20, 1149 (b)
117. TIPTON K.F.
The submitochondrial localization of monoamine oxidase in rat liver and brain.
Biochem. Biophys. Acta, 1967, 135, 910.
118. TISSARI A.
5-hydroxytryptophan decarboxylase and monoamine oxidase during foetal and postnatal development in the guinea-pig.
Acta Physiol. Scand., 1966, 67, suppl. 265.
119. USDIN E., USDIN V.R.
Effects of psychotropic compounds on enzyme systems. II. In vitro inhibition of monoamine oxidase.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1961, 108, 461.
120. WEINER N.
Substrate specificity of brain amine oxidase of several mammals.
Arch. Biochem. Biophys., 1960, 91, 182.
121. WEISSBACH H., REDIEFLD B.G., UDENFRIEND S.
Soluble monoamine oxidase ; its properties and actions on serotonin.
J. Biol.Chem., 1957, 229, 953.
122. WEISSBACH H., LOVENBERG W., UDENFRIEND S.
In vivo metabolism of serotonin and tryptamine : effect of monoamine oxidase inhibition.
J. Pharm. Exp. Therap., 1961, 131, 26.
123. WEISSBACH H., SMITH T.E., DALY J.W., WITKOP B., UDENFRIEND S.
A rapid spectrophotometric assay of monoamine oxidase based on the rate of disappearance of kynuramine.
J. Biol. Chem., 1960, 235, 1160.
124. WITT P.N., BRETTSCHEIDER L., BORIS A.P.
Sensitivity to d-amphetamine in spiders after iproniazid and imipramine.
J. Pharm. Exp. Therap., 1961, 132, 183.
125. WOOHSMANN H.
Ein Beitrag zur monoaminoxidase des Zentralnervensystems.
Acta Biol. Med. Germ., 1963, 11, 164.
126. WURTMAN R.J., AXELROD J.
A sensitive and specific assay for the estimation of monoamine oxidase.
Biochem. Pharm., 1963, 12, 1439.

127. YASUNOBU T., IGAUE I., GOMES B.
The purification and properties of beef liver mitochondrial monoamine oxidase.
Adv. in Pharmacology, 1968, 6, Part A, 43.
128. YODIN M.B., SANDLER M.
Activation of monoamine oxidase and inhibition of aldehyde dehydrogenase by reserpine.
Europ. J. Pharmacol., 1968, 4, 105.
129. ZELLER E.A.
Studies on the active center of monoamine oxidase.
Experientia, 1960, 16, 399.
130. ZELLER E.A., BARSKY J.
In vivo inhibition of liver and brain monoamine oxidase by 1-isonicotinyl-2-isopropyl hydrazine.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, 81, 459.
131. ZELLER E.A., BARSKY J., BERMAN E. R.
Amine oxidases. XI. Inhibition of monoamine oxidase by 1-isonicotinyl-2-isopropylhydrazine.
J. Biol. Chem., 1955, 214, 267.
132. ZELLER E.A., BARSKY J., BERMAN E.R., CHEPKAS M.S., FOUTS J.R.
Degradation of mescaline by amine oxidases.
J. Pharm. Exp. Therap., 1958, 124, 282.
133. ZELLER E.A., BLANKSMA L.A., BURKARD W.P., PACHA W.L., LAZANAS J.C.
In vitro and in vivo inhibition of amine oxidases.
Ann. N-Y, Ac. Sc., 1959, 80, 583.
134. ZELLER A., FOUTS J.R.
Enzymes as primary targets of drugs.
Ann. Rev. Pharmacology, 1963, 3, 9.
135. ZELLER E.A., RAMACHANDER G., ZELLER V.
Amine oxidases. XXI. A rapid method for the determination of the activity of monoamine oxidase and monoamine oxidase inhibitors.
J. Med. Chem., 1965, 8, 440.

TABLE DES MATIERES

Introduction	1
--------------------	---

PREMIERE PARTIE

MONOAMINE OXYDASE et INHIBITION DE SON ACTIVITE

Monoamine-oxydase	4
Répartition tissulaire	6
Localisation cellulaire	8
Constitution	9
Pluralité	10
Rôle physiologique	15
Inhibition de la monoamine-oxydase	26
Substances antidépressives, dites IMAO	28
Tests d'activité IMAO	41
Méthodes chimiques de mesure d'activité de MAO	44

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE de l'INHIBITION de la MONOAMINE PAR DES ANTIDEPRESSIFS

Dosage de l'activité de la monoamine-oxydase par la méthode à la cynuramine	51
Principe	51
Lectures spectrales U.V.	53
Spectre de fluorescence de la 4 HOQ	57
Application à l'analyse des tissus	59
Technique proposée	72
Expérimentation	76
Choix des inhibiteurs	77
Expérimentation sur le Rat	82
Expérimentation sur la Souris	98
Expérimentation sur le Lapin	105
Expérimentation sur le Cobaye	106
Exploration du catabolisme des catécholamines sous l'effet de IMAO	107
CONCLUSIONS	116
BIBLIOGRAPHIE	121

FACULTE DE PHARMACIE
UNIVERSITE DE NANCY

T H E S E

présentée par Monsieur RAMAZAN PAYENDAH
né le 5 juillet 1940 à KABOUL (Afghanistan)
nationalité : Afghane
et portant le titre :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'INCIDENCE BIOCHIMIQUE DES MEDICAMENTS
ANTIDEPRESSIFS CENTRAUX DE LA CLASSE DES INHIBITEURS DE LA
MONOAMINE-OXYDASE

VU,
NANCY, le 29 mai 1969
Le Président de Thèse,
Signé : S. BESSON

VU ET APPROUVE,
NANCY, le 29 mai 1969
Le Doyen de la Faculté,

Signé : R. BENE

